

A. SARTORY

---

GUIDE PRATIQUE  
DES  
MANIPULATIONS  
DE MYCOLOGIE PARASITAIRE

---

PARIS  
E. LE FRANÇOIS

HED NYC



CAB INTERNATIONAL  
MYCOLOGICAL INSTITUTE  
LIBRARY

IMI \ Books / SAR







GUIDE PRATIQUE

DES PRINCIPALES

MANIPULATIONS

DE MYCOLOGIE PARASITAIRE

A L'USAGE DES PHARMACIENS

## OUVRAGES DU MÊME AUTEUR

---

1. **Influence de l'agitation sur les champignons inférieurs :**  
115 pages, 20 planches dont une en couleur (Imprimerie Capio-  
mont) 1908.
2. **Les champignons comestibles et vénéneux de la Lorraine :**  
(avec la collaboration du D<sup>r</sup> Bertrand, de Malzéville) 1913.
3. **Les champignons vénéneux :** étude botanique, chimique et  
physiologique, 1 volume, 315 pages. En vente chez Le François,  
ouvrage couronné par l'Académie de Médecine, 1914.
4. **Poussières et microbes de l'air :** 1 volume (avec la collabo-  
ration de M. Langlais, ouvrages honorés de souscription des  
Ministres de l'Instruction publique, du Travail, de la Préfecture de  
la Seine, etc...) 1912.
5. **Guide pratique des principales manipulations de Bacté-  
riologie à l'usage des pharmaciens :** 1 volume, 316 pages  
16 planches, 3 figures. En vente chez Le François, place de l'Odéon  
Paris.



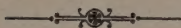
GUIDE PRATIQUE  
DES PRINCIPALES  
MANIPULATIONS  
DE MYCOLOGIE PARASITAIRE

A L'USAGE DES PHARMACIENS

*Avec un Appendice concernant les Champignons supérieurs  
et un Lexique des principaux mots employés en cryptogamie*

Par A. SARTORY

PROFESSEUR AGRÉGÉ A L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE DE PARIS  
CHEF DU SERVICE BACTÉRIOLOGIQUE  
A L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE DE NANCY  
PRÉSIDENT DE LA SOCIÉTÉ LORRAINE DE MYCOLOGIE



PARIS  
E. LE FRANÇOIS, Libraire  
9 ET 10, RUE CASIMIR-DELAVIGNE, 9 ET 10





## INTRODUCTION

---

Le succès de la première édition de notre *Guide des principales manipulations bactériologiques à l'usage des pharmaciens*, les nombreuses marques d'encouragement que nous avons reçues de toutes parts nous ont incité à publier un nouveau précis concernant les principales manipulations mycologiques (mycologie parasitaire surtout) indispensables à connaître aujourd'hui aussi bien du pharmacien que du médecin.

Voici quel est le plan suivi dans cet ouvrage :

### PREMIÈRE PARTIE

#### MÉTHODES DES RECHERCHES ET ÉTUDES DES CHAMPIGNONS

- a) Instruments : microscopes et accessoires, ultra microscope, appareil à mesurer, chambre claire. Dessins.
- b) Appareils de chauffage : stérilisateurs, autoclaves, appareils à température constante, étuves.
- c) Cultures : Généralités sur les milieux de culture ; stérilisation des milieux.

d) Marche à suivre pour l'étude complète des champignons inférieurs.

e) Examen microscopique des champignons prélevés dans une culture. — Manière d'opérer pour effectuer les ensemencements. — Cultures en milieux spéciaux.

f) Isolement des champignons inférieurs.

g) Développement des cultures et modification des milieux; obtention d'une culture pure à partir d'une spore, culture des anaérobies.

h) Procédé d'étude des produits formés dans les cultures.

i) Préparations microscopiques. Fixation des préparations microscopiques. — Fixateurs. Colorants. Emploi des agents décolorants. (Méthode de GRAM.)

j) Technique générale pour l'examen et la coloration des champignons filamenteux.

## DEUXIÈME PARTIE

### DESCRIPTION DES PRINCIPAUX CHAMPIGNONS PATHOGÈNES ET PARASITES DE L'HOMME ET DES ANIMAUX

Nous donnons un exposé succinct indiquant la description et le développement des espèces pathogènes les plus importantes sur les différents milieux employés en mycologie. Nous insistons davantage sur les champignons parasites de l'homme et des animaux, car l'étude des champignons pathogènes pour l'homme a pris dans ces dernières années, et sous l'influence des méthodes pasteurienues, un développement qui lui assigne désormais une place importante parmi les diverses branches des sciences médicales et pharmaceutiques.

Nous traiterons ici avec soin des espèces les plus courantes (*Mucorinées*, *Aspergillus*, *Levures pathogènes*, *Teignes*, *Trichosporium*, *Sporotrichum*, *Oospora*, etc., etc.



## TROISIÈME PARTIE

Comme la clinique est devenue de plus en plus exigeante nous avons tenu à donner au pharmacien, collaborateur du médecin le moyen d'effectuer les principales manipulations et les principaux examens microscopiques d'ordre mycologique indispensable à connaître aujourd'hui. Comme il existe souvent pour des espèces différentes une technique spéciale pour isoler ou rechercher le parasite, le lecteur trouvera pour chaque genre, parfois chaque espèce, le moyen de déceler à coup sûr le parasite incriminé. En appendice nous donnons quelques conseils sur la technique à suivre pour étudier les champignons supérieurs, les Basidiomycètes en particulier.

Comme dans notre guide pratique de bactériologie nous n'avons pas voulu accumuler dans ce modeste ouvrage toutes les méthodes connues en mycologie parasitaire. Nous avons eu simplement l'intention de fournir au commençant une technique sûre, facile, l'aidant à éviter les insuccès du début, en lui faisant par ce fait même aimer cette partie de la parasitologie qui a apporté à la pathologie générale et à la médecine expérimentale un contingent de notions du plus haut intérêt.





# GUIDE PRATIQUE

DES

## PRINCIPALES MANIPULATIONS MYCOLOGIQUES

---

### PREMIÈRE PARTIE

---

#### CHAPITRE I

#### APPAREILS ET PRODUITS CHIMIQUES INDISPENSABLES

#### POUR LE LABORATOIRE DE BACTÉRIOLOGIE ET DE MYCOLOGIE DU PHARMACIEN

---

**Autoclave.** — Nous recommandons l'autoclave du professeur RADAIS.

**Étuves.** — Appareils destinés à maintenir les cultures microbiennes à une température favorable. Nous recommandons instamment l'étuve de Roux.

**Balances.** — Une balance de précision et une balance sensible au gramme.

**Appareils divers.** — Réchauds à gaz. — Lampe à alcool. — Becs Bunsen à flamme éclairante et chauffante. — Fils et anses de platine. — Petites spatules en nickel pour les ensemencements. — Porte-tubes en bois. Paniers métalliques pour stériliser les tubes. Cylindres en carton ou boîtes en fer blanc destinées à contenir les tubes renfermant les milieux de culture. Entonnoirs

pour filtration chaude. Supports universels en métal. Pots à lait de 1 et de 2 litres en tôle émaillée. Un couteau d'argent. Mortiers en porcelaine. Capsules en porcelaine et en tôle émaillée. Pincés à matras. Couteaux à verre. Limes. Râpes. Bouchons en caoutchouc de calibres divers. Capuchons en caoutchouc ou en étain pour tube à essai. Thermomètres allant jusqu'à 200° (four à flamber) et 60° (pour étuves). Cercles en paille pour supporter les ballons à fond arrondi. Bouchon de liège. Toile métallique. Papier filtre ordinaire gris et blanc. Papiers Chardin. Cire Golaz. Papier tournesol, bleu et rouge. Trépieds. Microscope Radais avec ses accessoires.

**Objets divers.** — Lames et lamelles. Cellules de Van Tieghem. Verre de montre. Pincés de Cornet. Platine chauffante. Aiguilles à dissection. Ciseaux fins droits et courbes. Pincés fines. Flacons compte-gouttes. Flacon à baume de Canada. Flacon à huile de cèdre. Seringue pour inoculation (Roux) de 10 centimètres cubes avec aiguilles de platine.

## VERRERIE.

**Tubes à essai pour cultures.**

Tubes de Roux pour carotte et pomme de terre).

Fioles de Gayonet d'Erlenmeyer.

Boîte de Petri — Matras Pasteur. — Verres d'expériences. — Entonnoirs. — Ballons à fond plat de plusieurs grandeurs. — Ballons à fond arrondi. — Éprouvettes graduées et non graduées. — Cloche pour microscope. — Cristallisoirs divers. — Grands flacons de 5 à 10 litres de capacité avec un robinet. — Vases à précipités divers. Pipettes graduées. — Pipettes de précision donnant 50 gouttes au centimètre cube (pour les analyses d'eaux). — Burettes de Mohr. — Pincés de Mohr. — Baguettes de verre pleines et creuses de dimensions diverses.

**CONSEILS A SUIVRE POUR LE CHOIX DE LA VERRERIE.** — Utiliser des vases en verre très résistant et ayant déjà contenu depuis longtemps de l'eau distillée. On sait en effet que le verre cède de moins en moins de parties solubles à mesure que le contact se prolonge. Il est possible d'ailleurs de vieillir artificiellement les vases. A cet effet, on injecte d'abord un courant de vapeur d'eau à l'intérieur des récipients renversés, puis, après les avoir

remplis d'eau aux trois quarts environ ou du liquide à étudier, on les chauffe à l'autoclave à  $+ 120^{\circ}$ .

Il est de beaucoup préférable dans l'étude de trace d'élément d'utiliser des vases de quartz.

### PRINCIPAUX PRODUITS CHIMIQUES (1)

Acétone. Acide acétique cristallisable. Acétate neutre de plomb. Acide chromique. Ammoniaque. Acides lactique, nitrique, osmique, phénique pur, picrique, pyrogallique, sulfurique pur; tartrique. Alcool absolu et à  $90^{\circ}$ . Alcool amylique pur, méthylique. Amidon. Tous les produits chimiques entrant dans le liquide de Raulin (voir page 5). — Nitrate d'argent, asparagine, baume du Canada, Bleu coton C<sup>1</sup>B Poirrier, Bleu de Unna, Borax, Carmin, Chloral, Chloroforme, Chloroiodure de zinc, Dahlia, Eosines diverses, Essence de moutarde, Ether, Formol, Fuchsines diverses, Gélatine, Géllose, Glucose, Glycérine, Iode, Iodure de potassium, Lactose, Lactophénol, Liqueur d'Hoffmann, Levulose, Maltose, Mannite. Bichlorure de Mercure, Orange. Peptone (Chapoteaut, Byla, Vitte). Phénolphtaléine, Bichromate de potasse, Potasse caustique. Rouges magenta, neutre, Saccharose, Safranine, Sudan III, Tanin, Thionine, Thymol, Huile de Vaseline et Vaseline. Vert de méthyle. Violet cristal, Vésuvine. Sulfate de zinc.

Pour les colorants voir page 90.

---

(1) Outre ces produits chimiques se procurer si besoin existe les produits contenus dans les liquides de Pasteur, Hansen, Cohn, Nögeli, Hayduck, Van Tieghem et Le Monnier, Brefeld, Barthelat, Mayer, Laurent, ainsi que des composants des principaux fixateurs.



## CHAPITRE II

### MILIEUX DE CULTURES

---

La recherche du milieu de culture est souvent un problème difficile dont le hasard donne quelquefois la solution. Aussi est-il nécessaire de pratiquer des ensemencements sur les milieux les plus divers. Certaines espèces se cultiveront mieux sur le fumier ou sur le crottin, d'autres préfèrent la pomme de terre, la carotte, la mie de pain, d'autres enfin se cultiveront mieux sur liquide de Raulin, sur milieux liquides ou solides à base de maltose, etc.

Le milieu idéal paraît irréalisable, chaque espèce ayant des exigences spéciales et, dans bien des cas, les efforts doivent tendre vers la création de milieux électifs pour chaque espèce.

#### MILIEUX LIQUIDES MINÉRAUX

Les liquides qui ont été employés pour la culture des champignons sont très nombreux; nous nous bornerons à en citer quelques-uns.

##### Liquide de Pasteur

Eau distillée . . . . .	1.000 gr.
Sucre candi . . . . .	20
Tartrate d'ammonium . . . . .	0 1
ou carbonate d'ammonium . . . . .	1
Cendres de levures . . . . .	1

C'est le milieu qui a servi à Pasteur dans la plupart de ses études sur la fermentation alcoolique.

**Liquide de Hansen N° 1**

Peptone . . . . .	1 gr.
Dextrose . . . . .	5
Phosphate de potassium . . . . .	0 3
Sulfate de magnésie. . . . .	0 2
Eau distillée . . . . .	100

**Liquide de Hansen N° 2**

Peptone . . . . .	1 gr.
Maltose. . . . .	5
Phosphate de potassium. . . . .	0 3
Sulfate de magnésie. . . . .	0 5
Eau distillée . . . . .	100

Liquides employés par Hansen dans ses recherches sur la physiologie des levures.

**Liquide de Hayduck**

Eau . . . . .	2.000 gr.
Saccharose. . . . .	100
Asparagine. . . . .	2 5
Phosphate acide de potassium. . . . .	50
Sulfate de magnésium . . . . .	17

**Liquide de Cohn**

Eau distillée. . . . .	200 gr.
Tartrate d'ammoniaque . . . . .	2
Phosphate de potasse. . . . .	2
Sulfate de magnésie . . . . .	1
Phosphate bibasique de chaux. . . . .	0 1
Sucre . . . . .	20

**Liquide de Nøgeli N° 3**

Eau distillée . . . . .	100 gr.
Glucose . . . . .	3
Tartrate d'ammoniaque. . . . .	0 04
Sulfate de magnésie. . . . .	0 04
Chlorure de calcium . . . . .	0 02

**Liquide de Raulin**

Milieu de choix pour la culture des Mucédinées, levures et champignons inférieurs.

Eau . . . . .	1.500 gr.	
Sucre candi . . . . .	70	
Acide tartrique . . . . .	4	
Nitrate d'ammoniaque . . . . .	4	
Phosphate d'ammoniaque . . . . .	0	60
Carbonate de potasse . . . . .	0	60
— de magnésie . . . . .	0	40
Sulfate d'ammoniaque . . . . .	0	25
— de zinc . . . . .	0	07
— de fer . . . . .	0	07
Silicate de potasse . . . . .	0	07

#### Raulin neutre (LUTZ, GUEGUEN).

Eau distillée . . . . .	1.500 gr.	
Sucre candi . . . . .	70	
Tartrate neutre de potasse . . . . .	6	50
Azotate d'ammoniaque . . . . .	6	50
Phosphate de potasse . . . . .	0	60
Carbonate de magnésie . . . . .	0	40
Sulfate de potasse . . . . .	0	25
Sulfate de zinc . . . . .	0	07
Sulfate de fer . . . . .	0	07
Silicate de potasse . . . . .	0	07

Les deux milieux liquides (acide et neutre) pourront servir à l'obtention des milieux solides par l'addition de 1/20 de leur poids de gélatine.

Pour la culture des Mucédinées et des levures.

#### Raulin - urée.

Liquide de Raulin neutre sans azotate d'ammoniaque . . . . .	1.500 gr.	
Urée . . . . .	3	375

Milieu employé pour examiner l'action de l'azote organique sur les Mucédinées et les levures.

#### Liquide de Winogradsky.

Eau distillée . . . . .	1.000 gr.	
Phosphate de potasse . . . . .	4	
Sulfate de magnésie . . . . .	0	50
Chlorure de sodium . . . . .	} de 0 gr. 010 à 0 gr. 020	
Sulfate de fer . . . . .		
Sulfate de magnésie . . . . .		

Ce liquide peut être additionné de 1 à 40,0 de sucre. Nous l'avons employé avec avantage additionné de maltose pour isoler certains oospora de l'eau.

**Milieu de Van Tieghem et Le Monnier**

Nitrate de calcium . . . . .	4 gr.
Phosphate de potassium . . . . .	1
Sulfate de magnésium . . . . .	1
Nitrate de potassium . . . . .	1
Eau . . . . .	700

Milieu favorable pour la culture des Mucorinées.

**Milieu de Nœgeli**

Eau . . . . .	100 cm <sup>3</sup>
Sucre . . . . .	3 gr.
Tartrate d'ammoniaque . . . . .	1
Cendres de pois, cigares ou grains de froment, neutralisés par l'acide phosphorique ou cendres de levure en quantité un peu moindre.	0 4

Toutes ces solutions naturelles ou artificielles peuvent servir à préparer des milieux solides; il suffit de les additionner d'une quantité de gélatine telle que la masse soit liquide à 25° et se solidifie en se refroidissant.

Milieu favorable pour la culture des Mucorinées.

**Milieu de Brefeld**

Glycose . . . . .	10 gr.
Nitrate d'ammoniaque . . . . .	0.25 à 0.50
Cendres de cigare . . . . .	0.25 à 0.50
Eau . . . . .	100 gr.

On fait bouillir cette solution et on y ajoute de l'acide citrique jusqu'à réaction faiblement acide.

Milieu excellent pour la culture des Mucorinées.

**Milieu de Barthelat.**

Maltose . . . . .	30 gr.
Peptone . . . . .	10
Nitrate de chaux . . . . .	1
Azotate de potasse . . . . .	1
Phosphate de soude . . . . .	1
Sulfate d'ammoniaque . . . . .	1
Eau distillée . . . . .	1.000

Milieu employé pour les cultures des Mucorinées.



## Liquide de Mayer.

Sucre . . . . .	15 gr.
Phosphate de potassium . . . . .	5
Sulfate de magnésie . . . . .	5
Phosphate de chaux . . . . .	0 5
Nitrate d'ammoniaque . . . . .	0 75
Eau distillée . . . . .	1.000

Trace de bouillon de Liebig.

Milieu très favorable pour les Levures.

## Liquide de Laurent.

Sulfate d'ammoniaque . . . . .	4 gr. 71
Phosphate de potassium . . . . .	0 75
Sulfate de magnésie . . . . .	0 1
Eau distillée . . . . .	1.000

Le tout additionné d'un sucre.

Préparé par LAURENT pour ses recherches sur la nutrition hydrocarbonée des Levures.

## Liquide de Veirijski.

Sucre de canne . . . . .	25 gr.
Urée . . . . .	5
Carbonate de potasse . . . . .	0 01
Phosphate de potasse . . . . .	0 02
Sulfate de magnésie . . . . .	0 12
Sulfate de fer . . . . .	0 03
Sulfate de zinc . . . . .	0 03
Silicate de potasse . . . . .	0 03
Eau . . . . .	500

Faire la solution sucrée, ajouter 8 gouttes d'acide chlorhydrique pour intervertir le saccharose, puis ajouter les autres sels.

## Milieu de Meyer.

Hydrate de carbone . . . . .	15 gr.
Tartrate d'ammonium . . . . .	1
Phosphate de potasse . . . . .	0 5
Sulfate de magnésie . . . . .	0 25
Phosphate de calcium . . . . .	0 005
Eau distillée . . . . .	400 cm <sup>3</sup>

Milieux employés dans la culture des Mucorinées.

## MILIEUX LIQUIDES VÉGÉTAUX

On a préconisé les macérations, les infusions et les décoctions de plante. Ces milieux sont souvent très recommandables pour la culture des champignons inférieurs. Disons que les plantes ou parties de plantes sont coupées en morceaux et mises à macérer, à infuser ou à décocter selon les cas.

**Infusion de foin ou de paille.** — 15 ou 20 grammes de foin ou de paille, coupés en petits morceaux, sont traités par un litre d'eau bouillante: le tout est laissé à infuser pendant une demi-heure. On filtre et on neutralise à la soude, ou l'on acidifie avec un peu d'acide tartrique selon les besoins. On stérilise à l'autoclave.

**Décoctions végétales.** — On fait bouillir le produit dans l'eau pendant une demi-heure à une heure et l'on traite le liquide filtré comme il est nécessaire.

**Eau de touraillons.** — L'eau de touraillons s'obtient en mélangeant dans un litre d'eau, 100 grammes de touraillons (embryons desséchés d'orge en voie de germination), débarrassés par un lavage à l'eau de leur farine. On ajoute un peu de malt broyé pour dissoudre les dernières parties d'amidon, on chauffe à 55-58° une demi-heure, on porte à l'ébullition pendant 5 minutes, on filtre et on stérilise.

**Moût de raisin.** — On exprime des grains de raisins dans une certaine quantité d'eau, on porte à l'ébullition le jus ainsi obtenu, puis on le filtre et on le stérilise en chauffant pendant 20 minutes à 150°.

**Eau de levure.** — On l'obtient en faisant bouillir et en agitant pendant cinq minutes 100 grammes de levure de bière fraîche dans un litre d'eau distillée. On filtre ensuite et on stérilise. Souvent insuffisant ce milieu doit être additionné d'un sucre.

**Moût de bière.** — Pour le préparer on délaye 200 grammes de malt moulu (c'est-à-dire d'orge germé que l'on a préalablement broyé) dans un litre d'eau froide, puis on porte doucement la température à 60°. On maintient cette température pendant trois quarts d'heure en agitant, puis on ajoute 4 grammes de houblon. On fait bouillir une heure environ; on filtre et on dose la maltose avec la liqueur de Fehling. On étend ensuite le

liquide avec la quantité d'eau suffisante pour ramener le litre de maltose à 3 p. 100. Le moût est enfin filtré et stérilisé à 115° pendant 20 minutes.

### MILIEU DE CHOIX POUR LES LEVURES

**Eau de Malt.** — L'eau de malt se prépare en délayant 100 grammes. d'orge germé (ou malt), préalablement broyé dans un litre d'eau. On chauffe pendant une heure à 55-58° en ne dépassant jamais cette température, afin que l'amylase ne soit pas détruite, puis on fait bouillir pendant 5 minutes. On filtre et on stérilise.

**Décoctions de fruits et de tubercules.** — Préparer comme le moût de raisins.

### MILIEUX SOLIDES VÉGÉTAUX.

**Pommes de terre.** — On pèle les pommes de terre, on les découpe par moitié ou par tranches épaisses à l'aide d'un couteau stérilisé, ou en morceaux de dimensions voulues au moyen d'un tube emporte-pièces. Il convient ensuite de les laver sous un courant d'eau de manière à enlever les traces de fer laissées par l'instrument, qui peuvent modifier la coloration de certaines cultures. On dépose des quartiers de pomme de terre dans des tubes de Roux ou encore dans de larges tubes à essais, au fond desquels on place un tampon de coton imbibé d'eau. En usant de l'autoclave on les cuit et on les stérilise tous ensemble (stérilisation à + 115° pendant vingt minutes).

**Pommes de terre glycélinées.** — On laisse macérer pendant quatre à cinq heures les morceaux de pommes de terre pelées dans une eau additionnée de 6 à 15 % de glycérine ; puis, après ce temps, les morceaux sont placés dans les tubes dont le réservoir contient une petite quantité de liquide glycéliné. On porte à l'autoclave et on fait stériliser à + 115° pendant vingt minutes (1).

**Pommes de terres alcalinisées.** — On laisse les pommes de

---

1) Éviter de laisser séjourner les pommes de terre pendant un temps trop long dans le liquide glycéliné pour éviter la plasmolyse.

terre tremper pendant une nuit dans de l'eau additionnée d'environ 3 % de soude caustique et on stérilise ensuite.

*Pommes de terres acides.* — Les morceaux sont mis à macérer pendant une nuit dans de l'eau additionnée d'environ 3 % d'acide lactique, chlorhydrique ou autre. On stérilise ensuite.

*Carottes.* — C'est un milieu de choix pour les champignons; il est peu recommandable pour les bactéries. Même préparation que pour les pommes de terre.

*Artichauts.* — Milieu proposé par ROGER comme bon moyen de diagnostic. Après avoir enlevé les feuilles, on coupe le fond en petit cubes en ayant soin de conserver le foin. On introduit les morceaux dans des tubes dont l'extrémité fermée est remplie avec de la ouate humide. On place le foin en haut. Après avoir fermé à la ouate on chauffe à  $+ 115^{\circ}$  à l'autoclave. Il est absolument inutile d'apporter un soin quelconque dans l'ensemencement sur artichaut. Toutes les parties de ce végétal verdissent également.

*Gelée d'amidon.* — Délayer 10 grammes de fécule de pomme de terre dans 180 grammes d'eau; ajouter 5 grammes de carbonate de chaux précipité, répartir dans des flacons d'Erlenmeyer ou dans des boîtes de Pétri, stériliser à  $+ 115^{\circ}$ . Lorsque l'empois est refroidi, il forme sur le fond une couche blanchâtre homogène,

*Lait de riz.* — 1<sup>o</sup> Mélanger intimement :

Lait . . . . .	150 gr.
Bouillon peptonisé . . . . .	50
Riz en poudre . . . . .	100

2<sup>o</sup> Répartir le mélange dans des boîtes de Pétri, en couches d'environ 1 à 2 centimètres d'épaisseur.

3<sup>o</sup> Porter à  $+ 115^{\circ}$  pendant vingt minutes; le mélange se solidifie et forme une couche blanc opaque.

## BOUILLONS DE CULTURE.

*Bouillon de viande.* — Procédé de choix :

1<sup>o</sup> Prendre 500 grammes de viande dégraissée qu'on hache et qu'on met à macérer à basse température pendant vingt-quatre heures dans 1 litre d'eau ;



2° On passe et exprime dans un linge et, au besoin, on ramène au volume de 1 litre ;

3° On chauffe jusqu'à ébullition et l'on fait dissoudre de 10 à 20 grammes de peptones sèches pour 1 litre ;

4° On passe sur un filtre mouillé pour se débarrasser de la graisse ;

5° On alcalinise, jusqu'à réaction alcaline légère, mais nette ;

6° On chauffe à l'autoclave à  $+ 120^{\circ}$  pendant un quart d'heure, puis on filtre à chaud ;

7° On remplit les récipients désirés et l'on pratique la stérilisation à l'autoclave.

On peut, au cours de ces opérations, ajouter au bouillon d'autres substances dans un but déterminé, tels que sucres, glycérine, etc... Ceci ne change en rien la technique indiquée.

*Bouillon de veau.* — Il se prépare comme le bouillon de bœuf peptonisé en ayant soin de remplacer la viande de bœuf par 500 grammes de viande maigre de veau.

*Bouillon de poule.* — Il se prépare comme les précédents, mais avec 500 grammes de chair musculaire de poule ; rejeter avec soin la peau, les tendons, les os ; sans cette précaution le bouillon aurait une consistance gélatineuse.

*Bouillon de viscères.* — Les bouillons de foie, de rate, etc. se préparent comme les précédents avec 500 grammes de l'organe. Dans la plupart des cas ces bouillons sont légèrement troubles.

*Solution de Peptone de Kali.* — 1° Dissoudre à chaud, dans 1.000 grammes d'eau, 10 grammes de peptone WITTE ou CHAPOTEAUT et 5 grammes de NaCl. Ne pas alcaliniser ;

2° Porter à l'ébullition. Filtrer ;

3° Répartir en tubes ou en flacons. Stériliser à  $+ 115^{\circ}$ .

*Bouillon à l'extrait de viande.* — Dissoudre à feu doux 5 grammes d'extrait de viande dans 1.000 grammes d'eau. Alcaliniser si besoin est ;

2° Porter à l'autoclave à  $+ 115-117^{\circ}$  pendant cinq minutes.

Filtrer à chaud sur un filtre mouillé ;

3° Répartir en tubes ; stériliser à  $110-115^{\circ}$ .

*Bouillons sucrés.* — Au bouillon de bœuf, avec la peptone et le chlorure de sodium, on ajoute 2 à 4 % de glucose ou de sac-

charose, ou de lactose, ou de mannite, ou de dulcité, ou de maltose, ou de lévulose pour obtenir un bouillon glucosé, lactosé, galactosé, mannité, dulcité, maltosé, ou lévulosé. On termine l'opération comme pour le bouillon ordinaire.

**Bouillon glycérimé.** — Au bouillon de bœuf on ajoute avant la répartition en tubes 5 %, soit 50 grammes par litre, de glycérine pure.

**Bouillon carbonaté (1).** — A un bouillon sucré on ajoute avant la répartition en tubes 2 % de carbonate de chaux. Le bouillon lactosé carbonaté est le plus fréquemment employé. Quand on cultive dans ce milieu une bactérie ou un champignon attaquant les sucres, les acides produits pendant la fermentation mettent en liberté de l'acide carbonique, du sel de chaux et on constate alors un abondant dégagement de bulles gazeuses.

**Bouillon Martin.** — On prend des estomacs de porc bien nettoyés et l'on hache assez finement les tuniques muqueuses et musculaires. On opère généralement sur plusieurs estomacs à la fois, pour éviter les variations de teneur en pepsine provenant des causes individuelles.

Le hachis obtenu est mis à macérer de douze à vingt-quatre heures vers 50°, dans de l'eau acidulée, dans les proportions suivantes :

Hachis d'estomac . . . . .	200 gr.
Acide chlorhydrique. . . . .	40
Eau. . . . .	1,000

Puis on chauffe à 100° pendant quelques minutes pour détruire la pepsine en excès, on filtre et l'on alcalinise au moment où le liquide atteint la température de + 80°. On filtre sur papier; on chauffe à 120°, on filtre à nouveau et l'on répartit dans des ballons qui sont stérilisés à 115° pendant un quart d'heure. D'un autre côté, on hache 500 grammes de viande de veau qu'on fait macérer pendant vingt heures à 35° dans un litre d'eau, on exprime et l'on ajoute 5 grammes de sel. On mélange le liquide obtenu avec parties égales de bouillon de panse de la première préparation, on chauffe à + 70° pour coaguler les

1) Le carbonate de chaux a pour but de neutraliser les acides formés par les champignons aux dépens des sucres. Il permet une végétation plus soutenue et aussi d'étudier avec plus de précision les produits de fermentation qui sont formés en plus grande abondance.

albuminoïdes et l'on alcalinise en ajoutant, par litre, 7 centimètres cubes de solution normale de soude. On filtre sur papier et l'on stérilise par trois chauffages répétés à 100° ou, mieux, par filtration sur bougie Chamberland.

**Bouillon Savage au rouge neutre (1).** — A 500 centimètres cubes de bouillon de viande on ajoute :

Peptone Defresne . . . . .	10 gr.
Sel . . . . .	10
Glucose . . . . .	2 30

puis 5 centimètres cubes de la solution :

Rouge neutre . . . . .	5 gr.
Eau . . . . .	100 cm <sup>3</sup>

On stérilise à 115°. Le liquide est rouge rubis.

**Sérum.** — Le sérum sanguin a été pendant quelque temps le seul milieu où pouvaient se développer certaines bactéries pathogènes. Aujourd'hui nous possédons mieux et son emploi est devenu très restreint.

Pour l'obtenir, on peut avoir recours à la méthode préconisée par PASTEUR qui permet de l'avoir de suite dépourvu de germes vivants. Pour cela, on recueille d'une façon aseptique du sang *pur* chez un animal *sain* : après vingt-quatre ou quarante-huit heures, le sérum pur se sépare, à la suite de la rétraction du caillot. On s'adresse de préférence au cheval ou au bœuf. On recueille le sang de ces animaux dans des flacons préalablement stérilisés, avec toutes les précautions possibles pour éviter la contamination du liquide. Lorsque le caillot s'est rétracté et a séparé un sérum transparent de couleur ambrée, on aspire le liquide avec des pipettes Chamberland stérilisées, pour le répartir dans des récipients divers, où l'on veut faire les cultures, qui, eux aussi, ont été stérilisés d'avance.

**Sérum liquide.** — Le sérum du sang des différents animaux, séparé du caillot après la rétraction, ne peut, sans être modifié dans sa composition ni dans son aspect, supporter pendant longtemps une température de + 60° environ. En répétant le chauffage de quatre à six fois avec un intervalle de un à deux jours entre chaque opération, on arrive à obtenir un milieu dépourvu

1. Les résultats obtenus avec le milieu de SAVAGE sont fort variables. En général, on a intérêt à utiliser des bouillons faiblement colorés.

de germes et qui peut se conserver très longtemps (tyndallisation).

*Sérum solide.* — Porté à  $+70^{\circ}$  le liquide se prend en une gelée ferme, de teinte ambrée, opalescente. Dans la pratique bactériologique on introduit dans des tubes à essais environ 10 centimètres cubes de sérum liquide et on les dispose en les inclinant (de façon à pouvoir utiliser la plus grande surface possible du milieu) dans une étuve dite « appareil pour coaguler le sérum ». L'inclinaison des tubes est obtenue en élevant ou abaissant plus ou moins le support central. Le réglage se fait aussi par le régulateur de D'ARSONVAL. On chauffe doucement jusque vers  $+60^{\circ}$ , puis on laisse monter avec beaucoup de précautions jusqu'à  $+65^{\circ}$ . La coagulation se fait vers  $+68^{\circ}$ - $70^{\circ}$ . Le sérum additionné de glycérine ne se solidifie guère que vers  $+75^{\circ}$ . Il faut donc savoir si cette manipulation a été effectuée. On tyndallise comme précédemment par chauffages répétés. L'opération demande une semaine.

**Sérosités pathologiques.** — Les sérosités pathologiques du péritoine, de la plèvre, de l'hydrocèle peuvent servir de milieux de culture. On leur applique les mêmes procédés pour les recueillir et les mettre en usage.

Comme pour le sang, on peut les employer seuls ou mélangés par moitié au moins à d'autres principes nutritifs, comme la gélose notamment. On utilise surtout la *gélose-ascite* (1 partie de liquide d'ascite et 3 de gélose à 3 %). On peut également ajouter un peu de peptone, 1 à 2 %.

**Urine.** — On peut la prendre après miction et la soumettre aux procédés de stérilisation, pour la dépouiller de germes qui ont pu la contaminer à son passage dans l'air ou à son contact avec la peau toujours riches en bactéries.

**Lait.** — Le lait peut être utilisé comme milieu de culture et cela de plusieurs manières :

1° On répartit du lait frais, de réaction alcaline, dans des tubes à essais (15 à 20 centimètres cubes par tube). Boucher au coton et stériliser à  $+115^{\circ}$  pendant vingt minutes;

2° On retire directement le lait du pis de la vache (en ayant soin de laver très soigneusement ce dernier et de s'aseptiser les mains) et le recueillir dans des ballons stérilisés.

Les ballons sont remplis aux trois quarts, fermés à la lampe et



chauffés pendant huit jours au bain-marie entre  $+ 60$  et  $65^{\circ}$ .

On peut répartir ensuite dans des tubes flambés. Mais il faut bien reconnaître, malgré toutes les précautions prises, qu'un certain nombre de ces tubes peuvent être contaminés.

**Petit-lait.** — Le petit-lait a été vanté comme milieu de culture servant à différencier certaines espèces. On le prépare en coagulant le lait par addition d'un peu d'acide chlorhydrique; on fait reposer quelques heures pour laisser le caillot exsuder le liquide qu'on sépare; filtrer, neutraliser et stériliser à  $+ 100^{\circ}$ . Pendant cette période de chauffe il peut se produire un précipité qu'on sépare par filtration. On stérilise à nouveau.

**Œufs.** — Les œufs peuvent être utilisés de différentes façons. Certaines espèces se cultivent bien dans l'œuf frais cru, mais on utilise surtout le blanc d'œuf cuit pour cultiver les bactéries chromogènes, dont les colonies tranchent parfaitement à la surface. On coupe ce blanc en petits cubes qu'on dispose dans des tubes et qu'on stérilise à l'autoclave.

Pour la recherche de la trypsine, utiliser ces petits cubes de blanc d'œuf cuit. Les introduire dans des tubes à essais (1 par tube). Les recouvrir de bouillon simple ou de solution de peptone. Ensemencer avec la bactérie à étudier. On peut aussi être conduit à se servir de jaune d'œuf pour certaines cultures; le jaune d'œuf additionné de 5 p. 100 de glycérine donne un milieu de belle apparence.

**Milieux nutritifs à la gélatine.** — Introduits par KLEBS et BREFELD, ces milieux jouissent aujourd'hui d'une faveur spéciale. La gélatine qui va nous servir à confectionner ces milieux doit être de qualité irréprochable.

La gélatine à recommander est celle qui se vend sous le nom de gélatine extra-fine, blanc manger, enveloppe de papier bleu et étiquette dorée (marque d'or ou feuilles d'or.) La quantité de gélatine qui doit servir à solidifier un poids donné de milieu nutritif ou d'eau varie suivant les circonstances et surtout suivant les saisons. Pendant la saison froide la proportion est de 6 à 10 grammes pour cent d'eau ou de bouillon, pendant la saison chaude il est nécessaire d'employer 12, 15 et même 20 grammes de gélatine pour cent d'eau. Toutefois il n'est guère recommandé de dépasser 15 grammes.

A cet effet on divise les plaquettes de gélatine au moyen d'un ciseau et on les fait fondre dans le milieu nutritif choisi (bouillon

Raulin, etc.). On chauffe au-dessous de 60° au bain-marie dans un pot à lait en tôle émaillée (qui plonge dans une casserole d'eau) jusqu'à dissolution complète de la gélatine. On alcalinise (1) avec soin (Voir Neutralisation et alcalinité des milieux).

Il ne faut pas trop alcaliniser, car la gélatine ne ferait plus prise par le refroidissement. Ceci fait, on ajoute après refroidissement à 55° un blanc d'œuf délayé dans 50 centimètres cubes d'eau. On porte une demi-heure à une heure à + 115°. On filtre, on répartit et on stérilise.

La gélatine est stérilisée par tyndallisation à + 100° pendant trois jours consécutifs ou à 105°. Ne jamais atteindre 115°. La gélatine se solidifie d'autant plus difficilement qu'elle a été chauffée à une température plus élevée.

La gélatine s'emploie inclinée (2) ou non inclinée. Les tubes seront donc (pendant la solidification qui suit le dernier passage à l'autoclave) disposés soit debout, soit couchés sur une règle ou sur une baguette de verre. Les premiers serviront aux ensemencements par piqure et à la séparation en boîte de PÉTRI, en tube d'ESMARCK, les seconds aux ensemencements en strie.

#### Milieu de Lendner.

Les mucorinées se développent avec le maximum de luxuriance dans le milieu suivant : Vin blanc 1 litre, chauffé à feu nu pendant une demi-heure jusqu'à élimination complète de l'alcool. On remplace l'eau perdue dans l'évaporation en le ramenant au volume primitif. On neutralise exactement et on ajoute 10 % de gélatine et l'on filtre.

Le vin privé d'alcool, ne convient pas même lorsqu'il est neutralisé.

On ajoute au milieu 15 % de gélatine. Au moment de s'en servir, la gelée est additionnée de 1 % d'iodure ou, mieux, de bromure de potassium.

**Milieux à la gélose.** — On obtient très facilement des gelées à l'aide d'une algue des mers des Indes du genre *Gelidium* (*G. corneum*). PAYEN donne le nom de gélose à la matière gélatineuse retirée de cette plante marine. Pour préparer la gélose

(1) Les gélatines du commerce sont toujours acides.

2. Ne jamais incliner beaucoup de tubes à l'avance. Cette disposition du milieu favorise son évaporation et sa dessiccation.

ordinaire 25 grammes de produit commercial, coupés en petits morceaux, sont mis à macérer dans un demi-litre d'eau acidulée d'acide chlorhydrique à 6 %; on laisse en contact vingt-quatre heures en remuant à plusieurs reprises. Après plusieurs lavages à grande eau (ceci afin de faire disparaître toute trace d'acide), on met l'algue gonflée dans 400 ou 500 grammes d'eau additionnée de 5 % d'ammoniaque; on la retire après un jour et on lave comme précédemment. Pendant les fortes chaleurs de l'été, il est bon de réduire de moitié le temps de ces deux macérations successives.

On fait bouillir (1) un litre d'eau distillée et lorsqu'elle est en pleine ébullition, on y jette la gélose, qui se dissout en peu de temps. On a soin ensuite d'essayer le produit au papier de tournesol et de neutraliser avec la solution de soude à 40 %. On filtre à chaud sur un entonnoir bain-marie, ou de préférence à l'autoclave vers  $+ 100^{\circ}$ ; après avoir passé sur une flanelle, ce qui facilite beaucoup la filtration. Le liquide limpide se prend par refroidissement en une belle gelée opalescente lorsqu'elle est en masse, mais très transparente en plaques ou en tubes.

On rend la gelée nutritive en y ajoutant, avant de la neutraliser et de la filtrer, une solution de peptone dans les proportions de 1 à 2 grammes de peptone sèche pour 100 grammes de gelée. On délaye 10 à 15 grammes de peptone sèche dans 50 grammes d'eau. Le mélange avec la gelée se fait parfaitement à chaud. On peut se servir encore, comme liquide (à la place d'eau), de bouillon de viande ou de bouillon artificiel peptonisé. C'est ce mélange solidifié que l'on désigne en bactériologie sous le nom de *gélose nutritive*.

L'addition de faibles quantités de glycérine (1 à 5 %) à la gélose ainsi préparée donne de la gélose glycinée, employée pour cultiver certaines mucédinées (*Oospora*).

En ajoutant 1 à 2 % de glucose ou de lactose, etc., on obtient une gélose glucosée ou lactosée, qui peut servir à différencier certaines espèces.

Cette gélose ne commence à fondre que vers  $+ 70^{\circ}$ ; à  $+ 80^{\circ}$  elle devient visqueuse et complètement liquide entre  $+ 85^{\circ}$  et  $+ 90^{\circ}$ . Si on employait seulement 1 à 5,5 % de gélose, la gelée se liquéfierait vers  $+ 65^{\circ}$ . Par refroidissement ces gelées se prennent en masse à  $+ 40^{\circ}$ .

---

(1) Éviter de chauffer la gélose à feu nu, afin d'éviter la caramélisation.

**Gélose-gélatine.** — En ajoutant 1 à 2% de gélose aux gélatines ordinaires, on obtient un milieu qui supporte facilement la température de l'étuve sans se liquéfier (+ 37°).

**Milieu de Gorodkowa.**

Eau distillée. . . . .	100 gr.
Gélose . . . . .	1
Peptone. . . . .	1
Bouillon de viande. . . . .	1
Chlorure de sodium . . . . .	0 50
Glucose. . . . .	0 25

Pour la sporulation des levures.

**Bouillon** (FORMULE DE GEDGELST.)

Eau . . . . .	1.000 gr.
Peptone. . . . .	30
Extrait de viande . . . . .	5
Chlorure de sodium. . . . .	5
Phosphate de potassium. . . . .	traces
Glycérine. . . . .	60 à 80 gr.

**Bouillon artificiel**

Eau. . . . .	1.500 gr.
Peptone . . . . .	30
Glucose . . . . .	7 50
Glycérine . . . . .	75

On neutralise avec de la soude au 1/10, jusqu'à légère alcalinité et, comme avec le Raulin, on solidifie par la gélatine ou la gélose.

**Milieux d'épreuve de Sabouraud.**

I	Eau pure . . . . .	1.000 gr.
	Maltose brute de Chanut . . . . .	40
	Peptone granulée de Chassaing . . . . .	10
	Gélose . . . . .	18

Neutraliser, filtrer et répartir sur une épaisseur de 6 à 7 millimètres au fond de fioles coniques d'Erlenmeyer et en tubes inclinés.

II	Eau pure . . . . .	1.000 gr.
	Glucose de Chanut. . . . .	40
	Peptone granulée de Chassaing . . . . .	10
	Gélose . . . . .	18

Milieux proposés, au Congrès de Londres par Sabouraud pour différencier les espèces de Dermatophytes.

Le milieu de conservation est un milieu non sucré, destiné à empêcher les champignons de se pléomorphiser.

**Gélose apeptonée.** — Pour préparer la gélose apeptonée, on fait une macération de 750 grammes de viande dans 1.200 centimètres cubes d'eau. Cette macération, chauffée d'abord à petit feu, puis portée à l'ébullition pendant une demi-heure environ, est réduite par évaporation à 1 litre. Après filtration, on ajoute 2 % de gélose que l'on fait fondre à petit feu. On alcalinise franchement; on fait de nouveau bouillir la gélose pendant vingt-cinq minutes, après quoi on la répartit en tubes que l'on stérilise à 115°.

**Milieu de Veillon pour la préparation des tubes pour anaérobies.** — Prendre 600 grammes de viande de bœuf hachée, laisser bouillir dix minutes dans un litre d'eau. Ajouter ensuite 1 % de peptone, 0,5 de chlorure de sodium (NaCl), 1,5 de gélose pour cent. Porter à l'autoclave à + 100° pendant vingt minutes. On alcalinise et on colle au blanc d'œuf. On ajoute 1,5 % de sucre par exemple, 0,4 % de glucose et le reste en lactose ou saccharose.

On porte à l'autoclave à + 120°. On filtre et on répartit dans des tubes de 17 centimètres de long et 17 millimètres de diamètre.

On peut également utiliser la gélatine additionnée de 1,5 % de glucose ou le bouillon additionné de glucose, saccharose, dextrose, lactose dans la proportion de 2 %.

---



## CHAPITRE III

### MICROSCOPE ET ULTRA-MICROSCOPE

---

Un bon microscope est l'instrument indispensable du mycologue (1).

Il comprend : un *statif* et une *partie optique*.

Le *statif* est composé d'un *pied* que surmonte une colonne. Cette colonne porte en avant, à sa partie inférieure, un *miroir*, mobile dans tous les sens; au-dessus un *diaphragme* et un *condensateur Abbé*. Ces deux pièces sont mobiles verticalement et latéralement; au-dessus du condensateur une *platine*; à sa partie supérieure une hanche rigide horizontale terminée par un pignon muni d'une vis à crémaillère. Au pignon s'adapte le tube, qui présente la partie optique. Il existe en plus une vis, dite *vis micrométrique*, munie d'un ressort.

Le pied doit être très lourd pour assurer la stabilité.

Le miroir est *plan d'un côté, concave de l'autre*.

La platine est percée, au centre, d'une ouverture assez grande pour le passage des rayons lumineux réfléchis par le miroir.

Elle sert de support aux préparations.

Le condensateur permet de renverser les rayons vers la préparation. Le diaphragme permet le plus ou moins de lumière.

Le tube, qui est formé de deux cylindres emboîtés l'un dans l'autre, porte à sa partie inférieure un petit instrument appelé

---

(1) Nous n'entrerons pas ici dans la description du microscope, nous nous contenterons de donner succinctement les principales parties le constituant. Pour la description optique, voir les traités de physique.

*revolver porte-objectif* pour trois objectifs; on peut y laisser vissés les objectifs qui sont d'un usage courant. Chaque douille de revolver porte un numéro indiquant l'objectif qui doit y être vissé. Ceci a pour but d'éviter le décentrage de l'appareil. Le tube reçoit à la partie supérieure les oculaires.

Le tube est mis en mouvement par la vis à crémaillère quand il s'agit de déplacements importants, ou par la vis micrométrique s'il s'agit de déplacements de très faible longueur.

*Oculaires.* — L'oculaire le plus employé est celui de Huygens.

Les oculaires portent des numéros qui indiquent leur grossissement : I, II, III.

Les oculaires compensateurs, *très utiles* pour le mycologue permettent de compenser les imperfections de l'achromatisme des objectifs.

*Objectifs.* — Ils sont de deux sortes :

1° Objectifs à sec;

2° Objectifs à immersion homogène.

Les objectifs à sec sont destinés aux grossissements moyens. Ils sont désignés, chez la plupart des constructeurs (Stiassnie, Nachet, etc.), par les chiffres 0, 1, 2, 3, 4 jusqu'à 9, ordre de grossissement croissant.

Numéros correspondants de Zeiss : a<sup>1</sup> à a<sup>3</sup>, B à F.

Les objectifs à immersion homogène sont destinés aux grossissements plus forts.

Lorsqu'on fait usage de l'objectif à immersion on interpose entre la préparation et l'objectif un liquide dont l'indice de réfraction est sensiblement le même que celui du verre de l'objectif. On emploie le plus souvent l'*huile de cèdre*.

Il est indispensable que les objectifs jouissent d'une grande netteté. Il faut qu'ils laissent voir le contour des objets (pouvoir définissant), de même que les objets au-dessus ou au-dessous du foyer (pouvoir pénétrant). Enfin il faut qu'ils mettent en évidence d'une façon très nette les détails délicats (pouvoir résolvant).

Pour apprécier ces qualités, on examine avec ces objectifs des test-objets (diatomées, etc.) spéciaux livrés par des marchands d'instruments.

## MODE D'EMPLOI DU MICROSCOPE

Le microscope peut être employé pour examiner les champignons *colorés* et *non colorés*.

On examine presque toujours les champignons avec les objectifs ordinaires, l'objectif à immersion est réservé pour l'examen des champignons microscopiques (*Oospora*) ou pour mieux connaître les détails de structure d'un champignon (examen cytologique, etc.). Dans ce cas il est nécessaire d'avoir un bon éclairage.

*Eclairage.* — Généralement la lumière diffuse du jour constitue le meilleur éclairage. Si on désire un éclairage plus intense on fait usage de lumières artificielles (bec Auer, lampe à albob carbone, lampe électrique).

Mais nous rappelons qu'une simple lampe à pétrole, avec lentille condensatrice, est également suffisante.

OBSERVATIONS. — *Lorsqu'on fait usage de l'objectif à sec* : il faut employer le miroir *concave* et ne pas se servir du condensateur.

*Si l'on fait usage de l'objectif à immersion* : on doit employer le miroir *plan* et le condensateur.

Il n'y a aucune difficulté pour faire un examen microscopique *avec un objectif sec*.

*Emploi et examen avec l'objectif à immersion.* — Nous supposons que l'oculaire et l'objectif sont en place. On tire le tube, on lui donne l'inclinaison qui paraît la plus commode et la plus convenable pour l'observation.

On dispose le miroir, face plane en haut; on met en place le condensateur :

1° On fixe la préparation au moyen des deux petits valets et on dépose une goutte d'huile de cèdre sur la préparation (au centre). On abaisse l'objectif jusqu'à environ 2 à 3 millimètres de la préparation;

2° On abaisse très soigneusement et très doucement l'objectif jusqu'à vision plus ou moins nette de l'image que l'on cherche;

3° Saisir la vis micrométrique, la tourner très doucement jusqu'à apparition très nette de l'image. On déplace la préparation au moyen de petits boutons qui rendent la platine mobile, on peut ainsi fouiller la préparation et déceler les parties intéressantes;

4° Lorsque l'examen est terminé, il faut relever l'objectif au moyen de la vis à crémaillère ; enlever la préparation et nettoyer l'objectif. Pour cela on capuchonne le doigt d'une toile fine, on essuie la lentille très doucement *sans frotter*, on enlève le reste de l'huile de cèdre avec le même linge (ou mieux encore avec une peau de chamois) humecté d'une goutte de xylol.

*Examen avec l'objectif à sec.* — Ce mode d'examen est utilisé pour l'étude des champignons vivants (1). Il faut utiliser l'objectif 3, 4, 7 ou 9, oculaire I ou II, suivant les dimensions du champignon.

Voici la manière d'opérer :

1° Mettre en place la préparation à examiner, supprimer le condensateur. Placer le miroir face concave en haut ;

2° Abaisser l'objectif, éclairer au moyen du miroir, diaphragmer si vous avez une trop vive lumière.

Opérer ensuite comme ci-dessus.

GROSSISSEMENT. MENSURATION. — On utilise des grossissements fort variable pour l'examen des champignons. Certains champignons sont de grandes dimensions (Mucorinées, Saprolegniées, etc.) et des grossissements de 250 à 300 suffisent amplement, d'autres sont un peu plus petits (certaines levures) et nécessitent un grossissement plus fort (600 environ) ; d'autres enfin sont de dimensions extrêmement petites (Oospora) et l'objectif à immersion est nécessaire (800 à 1200 diamètres).

1° Il ne faut pas demander à l'oculaire un grossissement trop fort sous peine de diminuer la netteté de la préparation.

2° Une largeur trop grande entre l'objectif et l'oculaire enlève de la netteté.

La distance optima est 160 millimètres (tirage du cylindre supérieur du tube jusqu'à la marque 160) ;

3° C'est surtout à l'objectif qu'il faut demander la majeure partie du grossissement.

La valeur du grossissement pour chaque objectif, qui varie avec toute la série des oculaires, l'écartement des deux systèmes étant de 160 millimètres, est indiquée par tous les fabricants pour leurs microscopes respectifs.

Voici la table des grossissements pour les appareils Stiasnic.

---

(1) Examen des cultures en goutte pendante.

Table des grossissements.

NUMÉRO DES OBJECTIFS	OCULAIRES	
	I	III
2 (à sec) . . . . .	34	66
7 — . . . . .	345	621
9 — . . . . .	690	1 242
1/12 (à immersion). . . . .	625	1.125
1/17 — . . . . .	960	1.728

Mensuration des principaux éléments des champignons inférieurs.

Les dimensions des principaux éléments des champignons parasites sont très réduites, aussi sont-elles exprimées en milliè de millimètre, ou en  $\mu$  (prononcer mû).

*Instruments nécessaires pour effectuer cette opération :*

1° Un microscope avec ses accessoires.

2° Un oculaire micrométrique (c'est tout simplement un oculaire ordinaire entre les deux lentilles duquel est intercalé un disque de verre portant une échelle graduée en dixième de millimètre.

3° Un micromètre objectif (lame de verre portant une série rectiligne de traits espacés d'un centième de millimètre).

*Manière d'opérer.* — Placer l'oculaire micrométrique à l'endroit habituel des oculaires. Disposer également le micromètre objectif sur la platine. Examiner, amener les deux échelles graduées au parallélisme, en tournant l'oculaire; superposer les deux zéros en déplaçant le micromètre objectif. Parcourir les deux échelles et noter les deux premiers traits qui se confondent.

Supposons que le trait 20 de l'oculaire corresponde au trait 5 de l'objectif; 20 divisions oculaires représentent, sur l'objectif-préparation, 50  $\mu$  (5 fois 1/100 de millimètre); une division oculaire =  $\frac{50}{20} = 2 \mu 5$ .

Si maintenant nous remplaçons l'objectif micrométrique par la préparation portant l'objet à mesurer, nous constatons que l'objet couvre N divisions de l'oculaire. La longueur L de l'objet est :  $N \times 2 \mu 5$ .

Soit  $N = 3$ ; en nous reportant à l'exemple précédent nous aurons:

$$L = 2 \mu 5 \times 3 = 7 \mu 5.$$



## DESSIN

Le dessin des objets vus au microscope a l'immense avantage de fixer d'une façon précise tous les détails de structure et toutes les particularités de développement des microorganismes examinés.

On se sert de chambres claires pour effectuer ces dessins. Nous n'insisterons pas sur la description de cet appareil, elle se trouve dans tous les catalogues de constructeurs.

« La distance où l'on place la feuille de papier sur laquelle se projette l'image fait varier l'amplification de cette dernière. Il est avantageux de rapprocher la feuille de papier de l'oculaire jusqu'à ce que l'image que projette sur elle la présence de la chambre claire soit égale en grandeur à celle vue dans l'oculaire lui-même. » Cette dernière varie avec l'objectif employé et avec l'œil de l'observateur.

Il est difficile de terminer un dessin à la chambre claire. On finit le dessin à main levée en regardant de l'œil gauche dans le microscope.

Il est indispensable de noter sur le dessin le grossissement sous lequel il a été exécuté. Exemple : grossissement : 400 ou 400/1.

Ainsi que le propose *Mussat*, il est utile de choisir pour la mensuration une unité internationale. Le  $\mu$  métrique est ici tout indiqué.

1° On mesurera l'échantillon *in vitro*, s'il y a lieu.

2° On indiquera, en y joignant la mensuration, les modifications de forme observées dans les divers milieux de culture.

3° On mentionnera les dimensions des spores et des unités; il sera utile de déterminer, s'il y a lieu, les modifications de forme et de grandeur présentées par les spores au moment de leur germination.

Les divers éléments du champignon.

Un dessin est souvent plus démonstratif qu'une longue description, aussi nous conseillons de joindre toujours à la diagnose un bon dessin à la chambre claire et d'indiquer le grossissement, le  $\mu$  étant pris comme unité.

Les dernières méthodes de préparation microscopique montrent combien la dimension des éléments cryptogamiques varie suivant les préparations qu'on leur fait subir. L'eau, et surtout l'eau potassique, gonfle les cellules cryptogamiques; l'acide

formique, les colorants, l'alcool absolu, au contraire, les rétractent et les amoindrissent. Il sera prudent de tenir compte de ces constatations.

On peut aussi se contenter de marquer les numéros des systèmes optiques employés et le nom du constructeur : grossissement objectif 7, oculaire 2 (Stiassnie). Objectif apochr. 1,30, oculaire compensateur 8 (Stiassnie).

*Eclairage sur fond noir.* — C'est l'application du phénomène de Tyndall.

On sait que dans une pièce obscure hermétiquement fermée, les poussières en suspension dans l'air deviennent perceptibles sur le parcours d'un faisceau lumineux qui filtre à travers cette pièce. Les particules de poussières deviennent visibles parce qu'elles sont seules à réfléchir la lumière, tout le reste demeurant dans l'obscurité.

Dans l'examen ultra-microscopique on n'éclaire que l'objet; tout ce qui l'entoure reste invisible (fond noir). Aussi appelle-t-on cet éclairage « éclairage sur fond noir ».

*Dispositif.* — Adapter au microscope les objectifs voulus. Au début, on se sert d'un objectif relativement faible pour centrer, puis on adapte un objectif fort pour examiner en dernier lieu.

Nous employons le plus souvent l'objectif à immersion ou les objectifs n<sup>os</sup> 7, 8 ou 9. (Tout ceci dépend de l'espèce à examiner et surtout de ses dimensions).

Il est nécessaire d'avoir une source d'éclairage assez puissante. Nous employons toujours avec succès la petite lampe à gaz de Stiassnie.

Comme ultra-microscope nous nous servons également de l'appareil de ce constructeur. Avec cet appareil il suffit d'approcher la lampe du miroir.

Pour la technique ultra-microscopique il faut disposer :

- 1<sup>o</sup> D'une source lumineuse très forte;
- 2<sup>o</sup> D'une lentille permettant d'en condenser les rayons sur le miroir du microscope;
- 3<sup>o</sup> D'un statif stable portant un appareil à fond noir, un objectif et un oculaire.

Pour l'éclairage, nous conseillons le bec Auer à gaz.

L'appareil à fond noir, disposé à la place du condensateur de Abbé ou sur la platine (ceci dépend de l'appareil que l'on emploie), doit être centré. En regardant dans le microscope muni

d'un objectif faible, on doit apercevoir le centre de l'appareil nettement éclairé, sans ombres ni halos (BESSON, GASTOU) (1).

On dispose ensuite l'objet entre une lame et une lamelle très propres et exemptes de défauts.

On met au point en se servant soit d'un objectif à sec (7, 8 ou 9), soit de préférence d'un objectif à immersion avec un oculaire compensateur.

Toutes ces opérations nécessitent une certaine habitude.

*Quelques conseils sur l'entretien du microscope :*

1° Dans l'intervalle des examens, mettre à l'abri le microscope soit en le couvrant d'une cloche de verre, soit en le renfermant dans sa boîte;

2° Veiller avec le plus grand soin sur les objectifs. Faire attention aux particules de poussières qui peuvent y adhérer. Nettoyer l'objectif avec un linge très fin, et s'il est humecté d'huile de cèdre, avoir soin de le nettoyer avec une goutte de xylol;

Ne pas employer trop de xylol pour éviter de dissoudre le ciment qui assujettit les lentilles;

3° Si ce nettoyage ne suffit pas, envoyer d'urgence les objectifs au fabricant et éviter surtout de démonter soi-même les objectifs;

4° Essuyer les oculaires de temps en temps;

5° Mêmes observations pour le condensateur, le miroir, la platine, etc.;

6° Il est utile de graisser au moyen d'un peu d'huile de vaseline les organes de glissement (vis, tube à tirage).

---

(1) Pour plus d'explications, consulter BESSON et aussi GASTOU : *Pratique de l'ultra-microscope*. Un vol. Baillière, édit., Paris.

## CHAPITRE IV

### STÉRILISATION

---

Les divers agents qui tuent les germes bactériens sont utilisables pour effectuer une stérilisation à la condition, toutefois, qu'il n'altèrent pas le milieu soumis à leur action. Rarement on peut se servir des réactifs chimiques, et, parmi les agents physiques, la chaleur est celui qui a le plus grand nombre d'applications. L'emploi des filtres pouvant retenir les bactéries vient immédiatement après.

1° STÉRILISATION PAR LES AGENTS CHIMIQUES. — Les instruments, les verres peuvent être désinfectés par le sublimé corrosif (solution à 1 % ou l'alcool à 90° et 95°, ou l'acide sulfurique. Encore faut-il un contact assez long avec certaines espèces possédant des appareils reproducteurs (spores, à membrane résistante. L'usage en est d'ailleurs très limité.

2° STÉRILISATION PAR LA CHALEUR. — a) *Stérilisation par la chaleur sèche*. — Le procédé le plus simple est le *flambage* qui s'obtient en passant un certain temps dans la flamme du gaz ou de l'alcool les divers objets que l'on veut soumettre à la stérilisation. On procède ainsi à chaque instant dans la pratique bactériologique pour la stérilisation des fils de platine, les menus objets en verre, en porcelaine, les instruments en acier (encore faut-il bien faire attention pour ne pas détériorer ces derniers).

Les appareils les plus commodes pour le mode de stérilisation par la chaleur sèche sont : le *four Pasteur*, simple fourneau en tôle chauffé extérieurement par un fort brûleur, dans lequel on

suspend un panier en toile métallique porteur des différents objets à soumettre à une haute température et le *stérilisateur à air chaud*. Cet appareil est une sorte d'étuve qui se fabrique facilement partout. Les constructeurs le vendent à doubles parois entre lesquelles la chaleur se répartit uniformément et se maintient régulière: dans ce stérilisateur de faibles variations de température n'ont aucune importance. Le stérilisateur à air chaud est un des instruments les plus couramment employés; il sert journellement à porter à de hautes températures (+ 150° à + 180°) la verrerie, les scalpels, les ciseaux, les pinces, etc.

b) *Stérilisation par la chaleur humide*. — Cette stérilisation peut s'opérer à une température inférieure à + 100° ou à une température supérieure + à 100°.

L'*ébullition simple* est un moyen commode qui n'exige aucun appareil spécial. C'est un procédé peu recommandable, car *nombreuses sont les bactéries* dont les spores supportent fort bien la température de l'ébullition et sont ensuite encore capables de germer. L'ébullition simple est recommandable pour stériliser divers instruments d'acier utilisés en chirurgie, etc.

Le *chauffage au bain marie* donne ordinairement des résultats satisfaisants. Mais le procédé le plus employé est la *stérilisation à la vapeur d'eau*.

Le plus usité des appareils pour la *stérilisation à la vapeur d'eau sous pression* est l'*autoclave de Chamberland*. Ce n'est qu'une marmite de Papin perfectionnée.

Il se compose d'une chaudière en cuivre rouge brasé, sur laquelle se fixe, à l'aide de fortes vis de pression, un couvercle en cuivre muni de trois orifices. L'un donne issue au tube d'un manomètre; le deuxième est muni d'un robinet, le troisième porte une soupape de sûreté. La chaudière est supportée par un fourneau à enveloppe de tôle, muni de deux couronnes de brûleurs. Le manomètre est gradué de 0 à 2 atmosphères.

L'autoclave de RADAIS, qui se trouve aujourd'hui dans presque tous les laboratoires, est monté sur un bâti mobile qui en permet le facile déplacement. Le départ de vapeur est à la partie inférieure, ce tuyau de départ sert également à la vidange de l'eau et au nettoyage de la chaudière, opération facilitée et par conséquent plus aisée qu'avec les autres modèles. L'ouverture et la fermeture du couvercle se font par le jeu d'une pédale.

RÈGLES À SUIVRE POUR MANŒUVRER L'AUTOCLAVE. — On s'assure



tout d'abord qu'il y a assez d'eau dans l'appareil. Lorsque l'objet à chauffer est placé dans l'autoclave on fixe avec grand soin le couvercle *sans endommager le joint hermétique*. On l'amène dans la position exacte (marquée par un index) en le déplaçant latéralement. On serre alors les vis de compression, on ouvre tout à fait le robinet d'échappement de la vapeur et on allume le gaz. Aussitôt qu'un fort jet de vapeur s'échappe de l'appareil, on ferme le robinet d'échappement de la vapeur et on laisse monter la pression jusqu'à  $1\frac{1}{2}$  à 2 atmosphères. On éteint le gaz; on attend que le manomètre redescende à zéro et on ouvre le robinet d'échappement de la vapeur, afin d'obtenir à l'intérieur de l'appareil la même pression que celle de l'air extérieur. Quelques instants après on desserre les vis du couvercle et l'on enlève celui-ci (avec prudence!).

1° *Ne jamais fermer prématurément le robinet d'échappement.* — Dans ce cas la vapeur mélangée à l'air qui reste dans l'appareil agit beaucoup moins efficacement que la vapeur d'eau pure.

2° *Ne jamais ouvrir trop rapidement les robinets d'échappement de la vapeur* lorsque le chauffage est terminé, ce qui provoquerait un bouillonnement violent et des projections du liquide mis à chauffer.

## ÉTUVES ET RÉGULATEURS

La plupart des bactéries pathogènes doivent être maintenues à des températures variant entre  $+ 35^{\circ}$  et  $+ 38^{\circ}$ . On arrive à ce résultat en utilisant une étuve.

*Étuve de Schribaux.* — C'est la plus employée. Elle est constituée par une armoire en bois, fermée en avant par une ou deux portes vitrées, disposées au-dessus d'un brûleur à gaz. A l'intérieur, elle contient une série de tubes de cuivre disposés verticalement contre les parois. Le gaz de combustion circule dans ces tubes et détermine par rayonnement un échauffement uniforme de l'air contenu dans l'appareil.

La ventilation est assurée par des orifices placés dans la partie inférieure et dans le plafond de l'étuve.

La partie la plus importante est le régulateur métallique de Roux.

Certaines étuves possèdent un régulateur à mercure. Nous

donnons la description et le fonctionnement de ces deux appareils.

*Fonctionnement du régulateur à mercure.* — Le régulateur plongeant dans l'appareil dont on désire régler la température est maintenu solidement dans un bouchon, amener le gaz au moyen d'un tuyau de caoutchouc par la tubulure inférieure, conduire le gaz sortant par l'orifice supérieur au bec à gaz, par un autre tube de caoutchouc, dévisser la vis jusqu'à ce que le mercure laisse à découvert l'orifice central, allumer le bec à gaz, revisser la vis afin de faire remonter le mercure jusqu'à ce qu'il obstrue complètement l'orifice central; à ce moment, si le gaz ne baisse pas ou s'il s'éteint, en régler le passage par le trou existant dans la clef au moyen de la petite bague de caoutchouc. Ce réglage est très important, ce trou est une veilleuse de sûreté pour que le bec ne s'éteigne jamais, tout en ne laissant cependant passer qu'une faible quantité de gaz; si cette veilleuse était trop forte, il arriverait que le mercure fermant complètement l'orifice, la température que l'on désire atteindre serait encore trop élevée, puisque le gaz passerait en trop grande abondance par le trou; il est donc utile de régler cette veilleuse en laissant une flamme ayant 3 ou 4 millimètres de hauteur: cela s'opère par tâtonnements, en montant ou descendant la bague en caoutchouc; ensuite dévisser à nouveau la vis pour faire descendre le niveau du mercure afin de donner une flamme de 0 m. 025 environ, pour régler à 37° par exemple. Chauffer jusqu'à 30°, revisser la vis pour faire baisser sensiblement la flamme, la température continue de monter; si elle dépasse le degré voulu, revisser un peu plus; si, au contraire, elle ne l'atteint pas, dévisser légèrement; après ces quelques tâtonnements, le régulateur est au point. Ce modèle simple permet le réglage seulement à 3° près.

*Fonctionnement du régulateur bimétallique* (fig. 1). — Le fonctionnement de ces appareils repose également sur le principe de la différence des coefficients de dilatation linéaire de deux métaux, mais on utilise la déformation dans le sens de la longueur pour obtenir une force énergétique qui permet de multiplier l'amplitude des faibles déplacements.

Ils sont formés d'un tube extérieur métallique A, constituant à la fois le support et l'un des éléments de dilatation, et d'une tige métallique B, placée au centre du tube. Ces deux pièces

métalliques, dont les coefficients de dilatation très différents ont été étudiés avec soin, sont soudés ensemble à leur extrémité opposée à l'appareil de distribution du gaz.

Sous l'influence des variations de température, la longueur du tube extérieur varie (il est généralement formé du métal le plus dilatable). Ces variations de longueur sont transmises presque intégralement par la tige intérieure B, au moyen de la vis I, à une lame d'acier très épaisse encastrée dans une masse de bronze K. Cette lame d'acier, formant un levier peu flexible, sans arti-

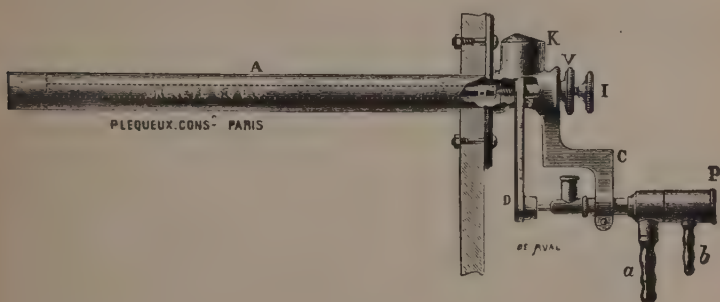


Fig. 1.

culaton, transmet le mouvement avec amplification au piston P, qui ouvre et ferme le gaz.

Le réglage se fait au moyen de la vis I, en ayant soin que le ressort D soit préalablement toujours bandé par la pression de cette vis I sur la tige B.

Ces régulateurs se font avec tube en zinc et tige en acier pour les températures inférieures à 100°, ou bien avec tube en laiton de grande dilatation et tige d'acier brasés à leur extrémité pour les températures supérieures à 100°.

Ces appareils sont d'une très grande sensibilité et d'une très faible sensiblerie, ce qui permet de les appliquer avec succès au réglage des étuves à culture aussi bien que les régulateurs en U.

## CHAPITRE V

### MARCHE A SUIVRE POUR L'ÉTUDE COMPLÈTE DES CHAMPIGNONS INFÉRIEURS

---

#### I. — Examen microscopique.

A. SANS COLORATION : De préférence en goutte pendante (1).

a) On notera la mobilité (très rare).

b) La disposition du mycélium, la présence de stolons, rhizoïdes, vrilles, tortillons, la dimension de ces organes.

c) La disposition des appareils reproducteurs (sporangies, conidies) la présence ou l'absence de columelle, la forme de la columelle avant et après maturité du sporange, la présence ou l'absence de capsules, de chlamydospores, de formes incrustées, de fuseaux multiloculés, de thyrses, de chandeliers faviques, d'organes tarsiformes, d'asques, d'ascospores, de périthèces, de spores, etc., etc.

On notera avec grand soin la dimension de tous ces organes.

B. AVEC COLORATION : 1° *Par le bleu lactique, le lactophénol ou le colorant triple de Gueguen.*

---

(1) La culture sur porte-objets se fait en milieu liquide et peut être poursuivie pendant toute sa durée au microscope : mais quand elle comporte une observation d'une durée un peu longue elle présente l'inconvénient de voir le liquide s'évaporer. On peut y obvier, en partie, au moins, en remplaçant le milieu liquide par un milieu solide. On dépose une gouttelette du milieu liquéfié par la chaleur sur le porte-objets chargé d'une spore et on l'étend en une couche mince de manière à pouvoir encore observer la spore au microscope.

2° *Par la méthode de Gram.*

3° *Par les colorations spéciales pour rechercher les granulations, les corpuscules jaunes (oospora), etc...*

## CULTURE

A. CULTURE EN Bouillon, *Raulin ordinaire, Bouillon sucré* (1).

On notera :

- 1° La température optima de la culture ;
- 2° Le temps que le Raulin met à se troubler (s'il se trouble) ;
- 3° L'aspect du trouble (uniforme, granuleux, en ondes soyeuses) ;
- 4° La formation d'un voile (irisé, épais, sec, plissé, etc.)
- 5° La réaction du milieu ;
- 6° L'odeur de la culture ;
- 7° La présence de pigments ;
- 8° La présence d'un dépôt (floconneux, lourd, etc.)

B. CULTURE SUR GÉLATINE . On notera :

- 1° Date de l'apparition des colonies ;
- 2° Marche de leur développement ;
- 3° Leur aspect et leur coloration ;
- 4° Aspect de la culture (uniforme, granuleuse, vermicellée, arborescente, etc).
- 5° La sécrétion d'un pigment.
- 6° La date et la marche de la liquéfaction ;
- 7° L'odeur de la culture.

C. CULTURE SUR GÉLOSE. On notera la date de l'apparition et l'aspect des colonies.

D. POMMES DE TERRE DIVERSES.

E. CAROTTE.

F. LES PRINCIPAUX MILIEUX EMPLOYÉS EN MYCOLOGIE.

G. LES MILIEUX SPÉCIAUX POUR LA PRODUCTION DES PERITHÈCES ASQUES, APPAREILS DE SOUFFRANCE, ZYGOSPORES CHLAMYDOSPORES, etc.

---

(1) Certaines espèces ne cultivent pas sur Raulin.



## INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE.

### Optimum culturaux.

Toute moisissure vit dans des limites de températures variables pour une même espèce, mais dans l'échelle thermique il est un point où sa croissance est maxima, ce point, marquant l'optimum de température de l'espèce considérée. GUÉGUEN distingue par définition *l'optimum de germination* de *l'optimum de croissance*.

*L'optimum de génération* est la température où l'allongement des filaments inférieurs est le plus considérable au bout d'un temps donné.

*Comment détermine-t-on l'optimum de germination?* — Pour le déterminer, nous ensemençons six tubes de Raulin que nous mettons dans des étuves réglées à 22°, 27°, 32°, 37°, 42° et 50°. Après 24 heures, un prélèvement opéré dans chaque tube permet de mesurer au microscope la longueur des hyphes émises par les conidies unités.

On peut également employer les cultures cellulaires dont l'examen est facile aux basses températures, mais à 42° ou 50° la préparation se trouve rapidement desséchée. Pour éviter l'évaporation on peut luter à la paraffine, mais alors la gouttelette d'eau ajoutée pour maintenir l'humidité se condense sur la lamelle et dilue le milieu nutritif. — Nous ne conseillons pas ce procédé.

*Comment détermine-t-on l'optimum de croissance?* — L'optimum de croissance est indiqué par le poids maxima de la récolte obtenue, au bout d'un même nombre de jours, dans des matras identiques. A l'aide d'une boucle de platine on ensemence superficiellement des ballons de 50 cc. contenant 20 cc. de Raulin normal que l'on place à + 22° + 27° + 37° + 42° et + 50°. Cinq jours après, le contenu de chacun d'eux est tué par la chaleur et jeté sur un filtre taré. Après plusieurs lavages pour éliminer toute trace de sels minéraux, on dessèche le filtre à l'étuve et on le pèse. La différence obtenue donne le poids du mycélium. Pour des températures voisines, il est souvent difficile d'établir des chiffres exacts; les voiles qui se sont formés à la surface du Raulin, s'épaississent se feutrent, diminuent, par leur action respiratoire, les proportions d'oxygène contenu dans l'atmosphère du matras et appauvrissent en éléments nutritifs le liquide sous-jacent. Dans

ces conditions de végétation exubérante et étouffée, les voiles présentent après cinq jours le même aspect et sensiblement le même poids.

Pour avoir des différences bien marquées, dans une semblable expérience, nous conseillons d'affectuer les pesées dès le troisième jour (SARTORY et JOURDE).

### Unification des méthodes de culture.

« De même que Grimbert l'a proposé pour les microorganismes, il nous semble, disent LUTZ et GUEGUEN que les règles qui devraient présider à toute étude de ce genre peuvent se résumer ainsi :

1° Déterminer et fixer la composition des milieux de culture universellement employés et le mode rationnel de leur préparation.

2° Etablir des règles conventionnelles pour l'examen des propriétés morphologiques et physiologiques d'un organisme, c'est-à-dire dresser la liste des épreuves à lui faire subir pour mettre en évidence ses diverses fonctions ».

Le liquide de choix est le Raulin et ils proposent l'emploi d'un liquide neutre, modification du Raulin ordinaire qui leur a rendu d'importants services.

### I. — Milieux généraux

Liquide de Raulin : acide normal.

—	neutre
—	acide normal gélatiné à 1/20
—	neutre gélatiné à 1/20

### II. — Milieu azoté avec azote organique.

Liquide de Raulin, sans azotate d'ammoniaque + urée.

### III. — Milieux renfermant diverses matières sucrées ou alcools polyatomiques.

#### A. — Solution mère.

Liquide de Raulin neutre sans sucre.

**B. — Milieux divers (1).**

Solution mère	+	glucose
—	+	levulose
—	+	galactose
—	+	maltose
—	+	lactose
—	+	glycérine

**IV. — Milieux renfermant des hydrates de carbone.****A. — Solution mère.**

Liquide de Raulin sans sucre

**B. — Milieux divers.**

Solution mère	+	amidon.
—	+	inuline.

**V. — Milieux divers.**

Lait

**A. — Liquide.****B. — Solides.**

Pomme de terre.

Carottes.

Albumine d'œuf de poule.

Les milieux liquides seront répartis de préférence dans des fioles d'Erlenmeyer (exception faite pour les levures anaérobies).

On notera la température à laquelle on opérera, on mentionnera la couleur des conidies, la coloration du milieu sous-jacent, etc.

**Caractères bio-chimiques.****I. — Action sur les Hydrates de carbone (fermentation, etc.).****II. — Action sur les matières azotées.****III. — Action sur certains sels organiques.**

(1) Il est absolument indispensable d'employer le liquide de Raulin neutre pour tous les milieux à base de matières azotées organiques ou de matières sucrées autres que le saccharose.

Le levulose devra être employé cristallisé, ce corps étant altéré par la chaleur à 40°, on devra se servir de la bougie pour en stériliser les solutions.

---

**IV. — Recherche de la sporo-agglutination.****V. — Recherche de la fixation mycosique.****VI. — Inoculations aux animaux.**

**LES CARACTÈRES BIOCHIMIQUES. — A. Action sur les matières azotées.**

Il est bon d'examiner l'action de l'azote organique sur les mucédinées et les levures; on pourra employer à cet effet le liquide de Raulin neutre dans lequel on remplacera l'azote ammoniacal par la substance organique choisie. Cette substance sera prise en quantité telle que le poids d'azote introduit dans le liquide nutritif soit égal à celui que renferme le liquide de Raulin type.

**I. Peptone. — Recherche de l'Indol.**

**II. Albumine cuite. — Recherche de la trypsine.** Peptonification et présence de la tyrosine.

**III. Lait. — Coagulation, (etc. voir page 63).**

**IV. Urée. — Transformation en carbonate d'ammoniaque sous l'influence de l'uréase.**

**V. Nitrates. — Déterminer si on est en présence d'un champignon dénitrifiant vrai, ou un champignon dénitrifiant indirect et noter :**

1° Si le nitrate est réduit en nitrite sans dégagement gazeux : a) avec formation de nitrite ; b) sans formation de nitrite.

**B. Action sur les hydrates de carbone.**

1° L'hydrate de carbone est-il attaqué?

2° Dans le cas de l'affirmative, quels sont les produits formés.

**Remarque à propos des milieux à base d'hydrate de carbone.**

Une particularité intéressante des organismes inférieurs réside dans la manière dont ils se comportent vis à vis des matières sucrées. Rien ne sera plus facile que d'étudier cette action en se servant pour les cultures d'un liquide de Raulin neutre (1) dans lequel on remplacera le saccharose par les diffé-

---

(1) Il convient de faire remarquer cependant que quelques espèces de champignons poussent mieux sur bouillon sucré que sur Raulin. Il peut être utile de comparer la luxuriance des cultures sur plusieurs milieux nutritifs.

rents sucres usuels ou par des alcools polyatomiques. Cette substitution pourra d'ailleurs être faite à poids égal.

Au lieu de matières sucrées, on peut utiliser divers hydrates de carbone (dextrine, amidon, inuline).

Pour étudier l'action fermentative des levures, voir (page 209).

#### Comment envoyer les cultures de champignons.

PINOY a fait à ce sujet des remarques très judicieuses. Les champignons possédant des spores résistantes (ascomycètes) doivent être parfaitement desséchés et conservés ou expédiés en tubes simplement bouchés au coton. Pour les champignons à spores fragiles (mucorinées) ou pourra conserver très longtemps les cultures vivantes en les ensemençant dans du bouillon sucré à 1 % sous une couche d'huile de vaseline (3 centimètres cubes pour 10 centimètres cubes de bouillon).

Il ne faut jamais expédier les tubes scellés ou cachetés renfermant des cultures sur milieux humides parce que les spores germeraient, les colonies ne végéteraient plus et mourraient faute d'air.

### EXAMEN MICROSCOPIQUE DES CHAMPIGNONS PRÉLEVÉS DANS UNE CULTURE

Si l'on désire faire un examen microscopique avec soin, il est indispensable d'avoir recours aux deux modes suivants :

1° *Examen direct sans aucune coloration préalable.* — A cet effet, vous déposez sur une lame au moyen d'un fil de platine une parcelle de la culture et vous l'examinez en la portant sous le microscope. Ce premier mode d'investigation peut fournir des renseignements sur la morphologie du champignon.

2° *Examen avec coloration.* — Cette deuxième opération a pour but de préciser les particularités morphologiques du champignon.

**EXAMEN SANS COLORATION :** On peut, surtout si on est pressé, entreposer une gouttelette de la culture à examiner entre une lame et une lamelle et porter le tout sous le microscope.

EXAMEN SUR LAME ORDINAIRE. — 1° *Culture en milieux liquides.*

a) Préparer une lame et une lamelle très propre.

b) Dans le tube, ouvert avec les précautions ordinaires, prélever au moyen d'un fil de platine préalablement stérilisé une parcelle du champignon si ce dernier est filamenteux, ou au moyen d'une pipette Pasteur, quelques gouttes de la culture si le microorganisme est uniformément reparté dans le liquide (levures, oospora, etc.). Dans ce dernier cas il est bon d'agiter la culture avant de faire une prise.

c) Déposer au centre une gouttelette du liquide aspiré dans la pipette, ou les débris filamenteux.

d) Poser sur la lame la face de la lamelle où repose la goutte de culture en ayant soin d'éviter les bulles d'air. La goutte est ainsi étendue en couche très mince.

e) Porter sur la platine du microscope et examiner avec l'objectif 3 d'abord, puis avec l'objectif 8 ou 9, oculaire I, II, ou III, puis à l'oculaire compensateur.

2° *Cultures en milieux solides.*

a) Déposer sur le centre de la lamelle une goutte d'eau stérilisée, de bouillon ou d'autres milieux nutritifs convenables;

b) Ouvrir comme précédemment le tube de culture; prélever une parcelle de cette culture avec le fil de platine et refermer le tube avec toutes les précautions nécessaires.

c) Porter la trace de culture dans l'eau ou le bouillon, la délayer avec le fil de platine s'il ne s'agit pas d'un champignon filamenteux. Flamber le fil de platine.

Si le champignon est filamenteux, le dissocier avec beaucoup de soin (dans l'eau ou le bouillon) au moyen de petites aiguilles spéciales. d) et e). Comme ci-dessus.

NOTA. — Pour l'examen après coloration, voir page 100.

*Cultures sur porte-objet.* — Il est indispensable, si l'on désire suivre pas à pas sous le microscope l'évolution des champignons, de recourir à un dispositif qui permet à tout moment, en même temps qu'il n'entrave en rien les conditions de nutrition indispensables à la vitalité, d'examiner en place les microorganismes.

Pour cela on fait usage de cellules de verre, précédemment employées par VAN TIEGHEM et LE MONNIER pour l'étude des champignons inférieurs.

C'est un simple anneau de verre de hauteur et de diamètre



variables, collé sur un porte-objet à l'aide d'un peu de baume du Canada, de lanoline ou de vaseline. La cellule ainsi limitée peut être close en haut par une lamelle qui doit s'appliquer *très exactement* sur le bord supérieur rodé de l'anneau. La lamelle qui s'applique ainsi sur le bord supérieur est enduite de vaseline au sublimé et obture complètement la chambre. On dispose une goutte d'eau pure au fond de la cavité sur le porte-objet et une goutte d'un milieu nutritif sur la face inférieure de la lamelle. On aura ainsi à sa disposition un milieu isolé de tout contact extérieur pouvant servir pendant longtemps de « garde-manger » aux champignons qui s'y développent. De plus, l'observation, même aux moyen d'objectifs puissants, sera possible à tout instant.

En pratique (1) : prendre une cellule, la passer dans la flamme ou dans l'alcool à 95°. Placer cette cellule sur une lame stérilisée préalablement à la chaleur. Rendre la cellule adhérente au moyen d'un peu de baume. A l'aide d'une pipette stérilisée, déposer au fond de la cellule une à deux gouttes d'eau stérilisée. Le bord libre est enduit de vaseline au sublimé. Au centre d'une lamelle passée à la flamme, on dépose une goutte de bouillon nutritif stérilisé, et sur celle-ci, à l'aide d'un fil de platine flambé au préalable, une faible parcelle de l'espèce à étudier. Cette lamelle est appliquée sur l'anneau, la face qui porte la goutte pendante tournée vers la cavité. Le développement des champignons à étudier se fait ainsi très bien, soit à la température ordinaire, soit sous cloche, soit à l'étuve, et peut être aisément suivi sous le microscope (multiplication végétative, formation des spores, germination, etc.).

Nous recommandons particulièrement ce moyen qui permet de suivre l'évolution des champignons inférieurs.

Pour inclure la préparation au baume du Canada (résine de conifère dissoute dans le xylol), on en place une goutte de 3 millimètres de diamètre au milieu du champignon coloré et on recouvre le tout d'une lamelle. Le flacon renfermant le baume doit être immédiatement fermé.

---

(1) On peut utiliser également la chambre humide de RANVIER, d'un prix modique. Mais pour des essais nombreux, il est préférable de faire soi-même les cellules. Pour les champignons ne poussant qu'à + 37°, les lames à cellules ou l'appareil de Ranvier sont placés dans la chambre chaude de VIGNAL à régulateur métallique.

---

NOTA. — Le baume ne doit pas avoir une réaction acide; si c'est nécessaire on l'additionne de carbonate de soude pulvérisé. On conserve ce mélange longtemps à la chaleur en l'agitant fréquemment pour séparer le baume ainsi traité du carbonate qui se dépose à la longue.

On fait disparaître les bulles d'air du baume (avant de placer la lamelle) en les touchant avec la pointe d'un fil de platine chauffé.

---

(1) Voir page 41 pour les précautions à prendre pour la culture sur porte-objets.

---

## CHAPITRE VI

### MANIÈRE D'OPÉRER POUR EFFECTUER LES ENSEMENCEMENTS

---

Supposons que nous ayons à pratiquer des ensemencements à l'aide d'une culture préalable et prenons comme type une culture en bouillon, de levure ou de mucorinée.

L'opération se décompose en *trois* temps :

I. Ouvrir le tube où doit être prélevée la semence ;

II. Prélever la semence ;

III. La transplanter dans le milieu à fertiliser :

a) Dans du bouillon ou dans d'autres milieux liquides ;

b) En stries sur gélatine, sérum, gélose, pomme de terre, etc. ;

c) En piqûre dans la gélatine ;

d) En colonies séparées (Voir isolement, p. 53).

a) *Ensemencement dans un milieu liquide.* — Le milieu nutritif choisi est le liquide de Raulin, par exemple. Prendre un tube de Raulin stérilisé et le tube contenant la semence ; flamber le bouchon d'ouate qui ferme l'orifice de chacun, pour détruire les germes pouvant y être déposés : saisir successivement les bouchons entre le pouce et l'index de la main droite et les dégager légèrement en les tournant sur eux-mêmes par un mouvement hélicoïdal. Placer les deux tubes côte à côte dans la main gauche dans une position presque horizontale, le fond des tubes étant retenu par le creux de la main, leur partie postérieure étant maintenue entre le pouce, l'index et le médius. Prendre entre l'index

et le médius de la main droite l'anse et flamber comme il a été dit. Après refroidissement de l'anse saisir entre le pouce et la pulpe de l'index de la main droite le bouchon d'ouate du tube semence, enlever le bouchon et le conserver entre le pouce et l'index.

Introduire l'anse (le fil de platine) très rapidement dans le tube de culture sans qu'elle touche les bords de l'orifice. Prélever une goutte de culture ou un fragment filamenteux, qui est vivement retirée du tube. L'orifice du tube est porté dans la flamme. On enlève de même le bouchon du tube à fertiliser, on plonge l'anse chargée de la semence dans le liquide nutritif neuf et on la retire rapidement. On flambe, on rebouche comme précédemment.

Avant de remettre l'anse en place on la porte au rouge pour détruire la semence.

b) *Ensemencement en stries.* — Prendre un tube de gélose et appliquer la même technique que nous avons indiquée pour l'ensemencement en milieu liquide. Le bouchon d'ouate étant enlevé, l'opérateur porte l'extrémité du fil de platine portant la semence sur la partie inclinée la plus voisine du fond du tube, puis la ramène vers l'orifice par un mouvement rectiligne ou légèrement sinueux en frottant la surface de la gélose.

c) *Ensemencement en piqure.* — La gélatine est le plus souvent employée pour cette pratique d'ensemencement. Le début est conforme à la méthode donnée plus haut.

Les deux tubes (cultures et gélatine) sont disposés dans la main gauche de la manière suivante : le tube semence se trouve placé dans le creux de la main et maintenu presque horizontal entre le pouce et la pulpe de l'index; le tube de gélatine est maintenu serré entre la face dorsale de l'index et la face palmaire du médius en position verticale, son orifice regardant le sol. On prend le fil de platine rectiligne (main droite) de façon que le pouce et l'extrémité de l'index restent libres. Flamber le fil, enlever le bouchon du tube de culture, prélever de cette culture en suivant les précautions indiquées en a). Enlever le bouchon du tube de gélatine et conserver ce tampon entre le pouce et la pulpe de l'index de la main droite. Le fil de platine est présenté verticalement de bas en haut à l'orifice du tube; on pousse l'extrémité du fil de platine jusqu'à la surface de la gélatine, puis on laisse le tube s'abaisser par son propre poids, on retire rapidement lorsque le fil a touché le fond du tube.

*Fil de platine.* — Le fil de platine joue un grand rôle en bactériologie comme en mycologie. Il est de beaucoup préférable aux autres fils métalliques vu son inaltérabilité qui permet de le porter au rouge sans pour cela subir l'oxydation. Le fil de platine étant très conducteur, ne peut être tenu entre les doigts; il faut l'emmancher soit dans un tube de verre plein, soit le souder à un fil de fer assez gros et rigide ou à un rayon de bicyclette, ou à tout autre support convenable.

On trouve dans le commerce trois types de fil, le gros, le moyen, le fin.

En pratique, il est indispensable d'avoir :

Un fil de platine fin, rectiligne (ensemencement en piqure);

Un fil de platine terminé en boucle pour prélever une goutte (anse);

Un fil moyen que l'on peut courber à angle droit près de son extrémité;

Un fil gros dont l'extrémité est écrasée en spatule (pl. I, fig. 3).

*Préparation des fils de platine.* — Il n'y a aucune difficulté à confectionner en ôse les fils de platine. On prend une baguette de verre plein de 5 à 7 millimètres de diamètre, on la coupe en morceaux de 20 centimètres au plus au moyen d'un trait de lime. On coupe avec des ciseaux les morceaux de fil de platine aux longueurs qui sont désirables (5 à 10 centimètres, mais le plus souvent 7 centimètres). Ramollir dans la flamme du chalumeau la baguette de verre en faisant constamment tourner la baguette entre les doigts. Puis, lorsque la baguette est ramollie, on y introduit bien droit l'extrémité chaude du fil de platine qu'on fait pénétrer sur une longueur de 1 à 1<sup>cm</sup>5.

Laisser refroidir.

Contourner en boucle, couder à angle droit ou écraser avec un marteau suivant les cas et les besoins.

MODE D'EMPLOI. — 1<sup>o</sup> Flamber dans la flamme d'un bec de Bunsen la partie supérieure du tube pour détruire les microorganismes déposés à la surface du verre;

2<sup>o</sup> Porter au rouge le fil de platine, le sortir de la flamme et le laisser refroidir un petit instant;

3<sup>o</sup> Porter rapidement le fil de platine sur le produit à ensemer, puis le faire pénétrer dans le milieu nutritif;

4<sup>o</sup> Après ensemencement porter le fil de platine au rouge pour être débarrassé des germes qui y sont restés adhérents.

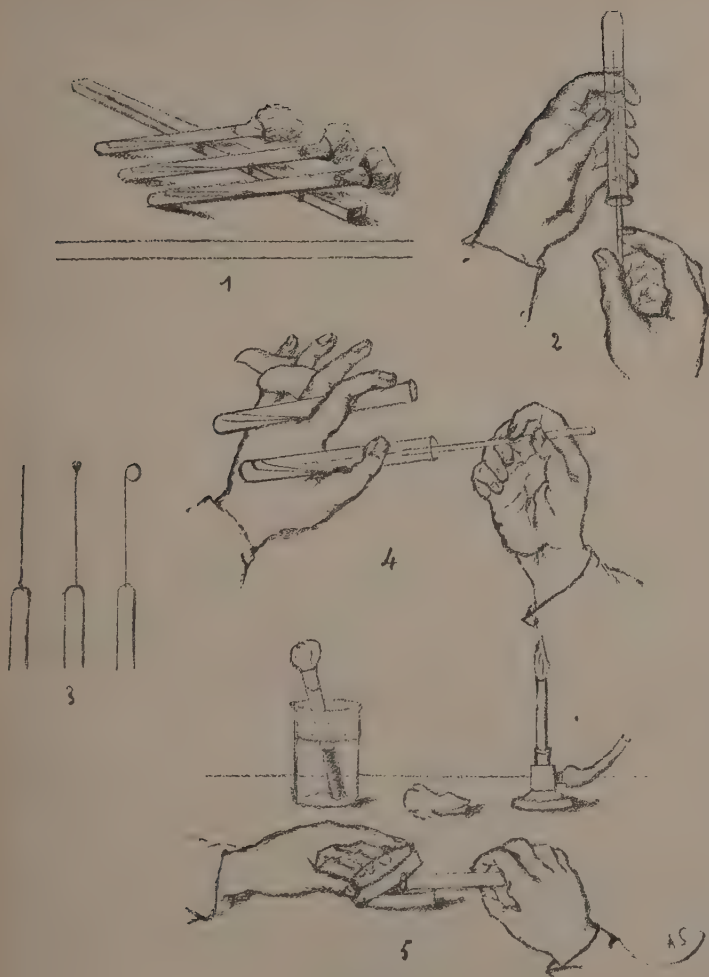


PLANCHE I

- 1 Manière de faire les tubes de gélose inclinée.
- 2 Ensemencement en piqûre.
- 3 Fils de platine divers (droit, en palette, en goutte).
- 4 Ensemencement et pratique des dilutions en tube à essai.
- 5 Manière de couler la gélatine dans une boîte de Pétri (séparation des espèces cryptogamiques).



*Aiguilles de verre.* — Si on ne dispose pas de fil de platine, étirer une baguette de verre de la même façon qu'on étire le tube dans la préparation des pipettes de PASTEUR. Avec le couteau à verre couper carrément en son milieu la partie effilée.

Ces aiguilles sont utilisées pour ensemencement en piqûre profonde (gélatine, gélose, etc.).

Flamber toujours ces aiguilles au moment du besoin.

---

## CHAPITRE VII

### DISSÉMINATION A LA SURFACE DES MILIEUX SOLIDES

---

Si l'on désire isoler les champignons inférieurs contenus dans un produit donné on pourra avoir recours à la méthode parensemencements en stries (1). Le produit pourra être mélangé avec des bactéries (ce sera le cas général), il sera donc indispensable d'en diluer un petit fragment dans quelques centimètres cubes de liquide de Raulin acide, laisser un instant (pendant 48 heures) et c'est au moyen de cette dilution que nous pratiquerons les ensemencements. Le Raulin acide aura pour but d'éliminer la plus grande partie des bactéries, celles-ci ne vivent généralement pas en milieu acide.

*Ensemencements en stries.* — Pour réaliser cette opération, il faut :

- 1 boîte de Petri stérilisée.
- 1 tube de gélose ou un tube de Raulin gélifié.
- 1 anse de platine avec fil moyen ou fort.

On liquéfie la gélose au bain-marie et on la coule dans la boîte de Petri. On place celle-ci sur une surface horizontale froide et on laisse la gélose se solidifier complètement.

On prend avec le fil de platine une parcelle du produit à ense-

---

1 Il sera cependant plus rationnel d'avoir recours à la méthode des plaques, (voir page 53).

mencer. On soulève le couvercle de la boîte et on couvre la surface du milieu nutritif d'une série de stries rectilignes parallèles éloignées de quelques millimètres l'une de l'autre sans changer l'öse. On comprend aisément que l'öse est chargée au début d'un assez grand nombre de germes, à chaque strie elle en abandonne quelques-uns, de telle sorte que les stries tardives ne sont plusensemencées qu'avec un très petit nombre de micro-organismes.

On porte à l'étuve à  $+ 22^{\circ}$  et à  $+ 37^{\circ}$ , les colonies se développent très nombreuses au niveau des premières stries, plus rares et très bien isolées au niveau des dernières.

Si l'opérateur ne possède pas de boîte de Pétri, il peut effectuer les stries en surface sur un tube de gélatine ou de gélose inclinée.

*Ensemencement en surface.* — Supposons que nous désirons faire un isolement sur Raulin gélosé, pomme de terre, carotte, etc. Cette manipulation nécessite trois tubes du milieu choisi. Si nous prenons du Raulin gélosé; il faudra :

1° Trois tubes de Raulin gélosé inclinés;

2° Un anse forte aplatie en palette.

Prélever avec l'anse une partie du produit à ensemenecer.

Déboucher un tube de sérum (avec toutes les précautions nécessaires), porter l'extrémité de l'anse sur la partie la plus reculée de la surface du Raulin, puis la ramener sur l'orifice du tube en la promenant transversalement de manière à enduire toute la surface du milieu (Nous appellerons ce tube : tube I).

Reporter ensuite l'anse sans recharger sur le second tube et opérer comme précédemment (tube II).

Même opération sur l'autre tube (tube III).

Sur le tube I nous aurons des colonies nombreuses; sur les autres, des colonies rares et bien isolées.

*Remarques.* — MIQUEL a, depuis longtemps, attiré l'attention sur le fait suivant. Les colonies obtenues par la méthode des plaques n'ont pas toujours pour origine une seule cellule microbienne.

Il y a lieu de dissocier le plus possible les éléments de la première émulsion.

D'autre part, la gélose ou la gélatine s'opposent par leur viscosité à cette dissociation.

Aussi, pour toutes les recherches rigoureuses, est-il indis-

pensable, lorsqu'on a obtenu par ensemencements successifs sur gélose ou gélatine une série de colonies, de procéder à la vérification des colonies isolées. Bien souvent l'examen morphologique ne donne rien. Aussi nous conseillons vivement de diluer une colonie entière, si possible, dans 8 ou 10 centimètres cubes de bouillon ou d'eau physiologique stérile. Puis, à l'aide de cette première dilution, effectuer une seconde dilution et ainsi de suite (en général trois ou quatre). Avec chaque dilution commencer une série de plaques de gélose ou gélatine.

Cette méthode est la méthode mixte préconisée par MIQUEL qui, on le sait, fut le champion de la théorie des dilutions. Ce n'est que plus tard que MIQUEL, reconnaissant que sa méthode de dilution nécessitait un matériel par trop considérable, proposa la méthode mixte. Mais même après un premier passage sur plaque, on ne peut garantir que toute colonie provient d'un germe unique. Cette méthode employée pour isoler les bactéries donne d'excellents résultats pour isoler les champignons inférieurs.

### **CULTURES A LA TEMPÉRATURE OPTIMA ET CULTURES FRACTIONNÉES**

Beaucoup de microorganismes se développent à toutes les températures (entre  $+10^{\circ}$  et  $+40^{\circ}$ ) ; mais un certain nombre, et notamment les saprophytes, poussent peu ou point au-dessus de  $+32^{\circ}$  à  $+34^{\circ}$ , tandis qu'au contraire la plupart des champignons pathogènes ont leur optimum cultural compris entre  $+34^{\circ}$  et  $+40^{\circ}$ , certaines même ne pouvant pousser au-dessous de  $+36^{\circ}$ .

On applique la méthode des cultures à la température optima pour l'isolement des germes.

#### **Cultures en milieux spéciaux.**

Il n'existe pas en mycologie de milieu idéal qui puisse donner d'excellents résultats pour cultiver tous les cryptogames inférieurs. Il est donc nécessaire de profiter de l'excellence d'un milieu favorable à une espèce pour cultiver cette espèce. Exemple : le milieu de Sabouraud pour les Teignes, le bouillon maltosé pour les oospora, etc...

*A priori* le milieu idéal paraît irréalisable, chaque espèce ayant des exigences spéciales.

Tous les efforts doivent tendre vers la création de milieux électif pour chaque espèce.

*Inoculations à l'animal.* — On peut parfois, étant donné un produit contenant un champignon pathogène isoler celui-ci à l'état de pureté en l'inoculant à un animal approprié.

Nous avons eu de bons résultats en employant ce procédé dans l'isolement de quelques oospora pathogènes.

*Conservations des cultures pures vivantes.* — Ce n'est que par repiquages réguliers et fréquemment répétés que l'on peut conserver et maintenir une forme avec des caractères constants et en bonne vitalité. Un excellent milieu pour conserver les espèces cryptogamiques est le bois de réglisse préparé selon la méthode BAINIER.

---

## CHAPITRE VIII

### ISOLEMENT DES CHAMPIGNONS INFÉRIEURS

---

Isoler un champignon, c'est l'obtenir en culture pure.

Cette opération est nécessaire, nous dirons même indispensable quand on désire étudier avec soin un échantillon quel qu'il soit au point de vue bactériologique ou mycologique.

Les méthodes d'isolement sont nombreuses. Nous donnerons ici des méthodes générales s'appliquant dans tous les cas.

MÉTHODES GÉNÉRALES. — Comme pour séparer les microbes on emploie ici aussi presque exclusivement les milieux solides. Pour les isoler au moyen des milieux solides on peut les répartir :

1° Soit dans des milieux préalablement liquéfiés (gélatine, gélose, Raulin gélosé, etc.).

2° Soit à la surface des milieux, en opérant par épuisement ou par dilution. L'isolement en surface est réalisé à l'aide des milieux à base de gélose (gélose ordinaire, gélose maltosé, etc.).

Les instruments nécessaires pour effectuer un isolement sont :

1° Des boîtes de Petri (une demi-douzaine). Ces boîtes de Petri doivent être enveloppées dans deux papiers filtres et flambés au four Pasteur. Avoir toujours une série de boîtes de Petri préparées d'avance.

2° Des pipettes de Pasteur.

3° Des tubes de gélatine, de gélose, de gélatine-gélose ou de milieux spéciaux.

*Isolément.* — 1° Liquéfier au bain-marie la gélatine de trois ou quatre tubes de gélatine ;



2° Prélever au moyen d'une pipette de Pasteur une goutte du liquide dont on veut isoler les germes. Déposer cette goutte dans un tube de Raulin gélatiné en ayant soin de veiller à ce que la température de la gélatine ne soit pas de nature à détruire les germes. Replacer le tampon de coton du tube et assurer le mélange exact en roulant très rapidement le tube entre les deux mains (ce tube portera le nom de tube I);

3° Au moyen d'une nouvelle pipette de Pasteur, prélever trois gouttes, dans le tube I et les reporter dans le deuxième tube de Raulin gélatiné préalablement liquéfié. Mélanger (tube II);

4° Prélever trois gouttes, du tube II et les ensemercer dans le tube de Raulin gélatiné (tube III);

5° Prélever trois gouttes du tube III et les ensemercer dans un nouveau tube de Raulin gélatiné (Tube IV).

Nous obtenons ainsi quatre dilutions différentes et, suivant la richesse en germes, la dilution II ou III ou IV nous donnera les résultats les plus satisfaisants;

6° A ce moment débarrasser une boîte de Petri de ses enveloppes de papier. Déboucher avec toutes les précautions possibles le tube I. Soulever avec soin le couvercle de la boîte de Petri, couler le Raulin gélatiné dans la boîte, replacer rapidement le couvercle. Étaler rapidement la gélatine par quelques oscillations répétées, puis replacer cette boîte sur une surface horizontale et froide. Laisser ainsi une ou deux heures, étiqueter et placer à l'étuve à  $+ 20^{\circ}$  (1);

7° Opérer de même pour les tubes II, III et IV;

8° Avoir soin d'examiner chaque jour les boîtes, de noter le développement des colonies, leurs caractères (examen à l'œil nu et à la loupe à travers la paroi de verre de la boîte); enfin prélever une petite parcelle (une ôse) de chaque colonie pour les examens microscopiques et les repiquages sur différents milieux.

*Remarque très importante.* — La gélatine est un excellent milieu pour pratiquer la séparation des espèces, mais il ne faut pas oublier que certains champignons liquéfient rapidement la gélatine, d'autres organismes mycéliens ne végètent qu'à des températures supérieures à  $+ 25^{\circ}$  (la gélatine se liquéfie à cette température). Il est donc nécessaire d'employer dans ce cas des

---

(1) La gélatine fond à  $+ 26^{\circ}$ . La température de fusion varie toutefois suivant la concentration du milieu, son mode de préparation, etc.

plaques préparées à base de *gélose* (Raulin gélosé). On opère de la même façon que pour la gélatine. La gélose solidifiée ne se liquéfie qu'entre  $+ 60^{\circ}$  et  $+ 100^{\circ}$  mais en se refroidissant elle reste liquide jusqu'à  $+ 40^{\circ}$ .

On peut aussi employer le mélange gélose-gélatine, qui supporte à l'étuve  $+ 25^{\circ}$  à  $+ 35^{\circ}$ .

### DÉVELOPPEMENT DES CULTURES ET MODIFICATIONS DES MILIEUX.

**MILIEUX LIQUIDES :** *Le liquide reste limpide.* — Il peut se former au fond du vase un dépôt parfois très léger, floconneux ; parfois épais, caillebotté ; parfois aussi gluant, adhérent à la paroi du récipient. La couleur du précipité peut être variable. Il existe en effet des champignons chromogènes (levures, etc.).

*Le liquide se trouble d'abord*, puis il se forme un dépôt au fond du vase, ou un voile à la surface du liquide. Le trouble est faible, plus apparent ou très prononcé. Les éléments en suspension peuvent alors se déposer au fond du vase en un sédiment ou former un voile à la surface du liquide. Ce dernier peut être mince, épais, lisse, plissé. Le milieu peut se clarifier, conserver sa couleur primitive ou se décolorer légèrement. Le milieu peut devenir visqueux, filant et dégager des odeurs particulières ( $H^2 S$ ,  $Az H^3$ , etc.). La liqueur reste transparente : Il se forme le plus souvent des flocons blancs (amas mycéliens) légers, ressemblant quelque peu à du coton flottant dans le liquide, parfois cependant plus épais, certains myceliums surnagent, d'autres tombent au fond.

Pour le lait, voir page 63.

Les cultures sur milieux nutritifs solides fournissent des caractères macroscopiques et microscopiques très intéressants.

**GÉLATINE :** *Cultures en tubes.* — La gélatine dans une culture en piqûre se liquéfie ou reste intacte. Si elle se liquéfie la liquéfaction commence en surface à l'endroit précis de la piqûre et cette liquéfaction se poursuit lentement ou rapidement parallèlement à la surface de la gélatine (cas assez fréquent).

Parfois la liquéfaction commence à l'endroit de la piqûre puis s'étend peu à peu dans tout le sillon effectué par l'aiguille. Elle est rapide en haut où l'oxygène prédomine. C'est la liquéfaction en entonnoir (cas très rare). La gélatine liquéfiée peut se troubler,

rester incolore ou se colorer par des pigments sécrétés par certains champignons inférieurs, souvent le champignon filamenteux (*Mucorinées*, *Aspergillus*, *Acrostalagmus*, etc.) envahissent le substratum sans produire aucune liquéfaction, il y a parfois pigmentation et dislocation de la gélatine.

EN STRIES. — On inocule en stries sur gélatine en tubes inclinés quand les espèces ne liquéfient pas ce milieu. Le milieu se charge parfois de colorations diverses.

Les caractères des cultures en tubes de gélose sont tout aussi variables. *La liquéfaction de gélose est extrêmement rare.* Les cultures sur pomme de terre ont souvent des formes qui peuvent guider pour différencier telle espèce de telle autre.

D'une façon générale, les cultures sur milieux solides, peuvent donner des renseignements très précis sous la diagnose des champignons.

Certaines espèces liquéfient rapidement la gélatine, d'autres la liquéfient mal on ne font que la ramollir; d'autres enfin après un mois ne modifient pas du tout le substratum. La liquéfaction étant l'œuvre de diastases est influencée par de nombreux agents. Ainsi des espèces à faible pouvoir liquéfiant ensemencées sur gélatine très concentrée à  $+ 15^{\circ}$  ne déterminent pas de liquéfaction après huit à quinze jours. D'autres, au contraire, qui habituellement ne font que ramollir ce milieu, ensemencées sur gélatine à faible concentration à la température de  $+ 20^{\circ}$  la liquéfient après huit ou quinze jours. Il y a donc nécessité d'utiliser une gélatine préparée toujours de la même façon, à un degré de concentration, après ensemencement, de le soumettre à une température de  $+ 20^{\circ}$ .

#### OBTENTION D'UNE CULTURE PURE A PARTIR D'UNE SEULE SPORE

Nous savons que les méthodes de cultures sur plaques, ou mieux encore la *méthode mixte de Miquel*, dite méthode des dilutions successives, offrent quelques garanties pour obtenir des cultures pures en partant d'un seul germe. Mais même en répétant plusieurs fois les passages de la culture obtenue précédemment, d'abord sur les milieux liquides, puis isolément sur plaque, on ne possède pas la certitude d'être parti d'une seule cellule.

Pour les levures, Chr. Hansen a résolu la question.

*Ensemencement.* — Il est possible pour une culture en cellule d'ensemencer *une seule spore*. Pour y parvenir, on pratique une vingtaine de cultures en goutte pendante en ayant soin d'ensemencer de la façon suivante : le fil de platine stérilisé est introduit avec toutes les précautions d'usage dans le tube renfermant le champignon. Au sortir du tube il retient une quantité assez forte de spores. Un premier ensemencement est fait sur la première goutte cellulaire, puis sans recharger sur la deuxième, sur la troisième, etc. On obtient ainsi de moins en moins de spores et très souvent les dernières gouttes pendantes n'en ont que deux ou une. On s'en assure par un examen au microscope. Ceci fait on place à l'étuve (se renseigner sur la température optimale du champignon). On examine chaque jour. Au moment de l'apparition des appareils reproducteurs la diagnose peut être faite.

*Ensemencement à partir d'une spore (Mucorinée).* — On prend un sporange au moyen d'une pince (ce qui est relativement facile) et on le dispose dans un verre de montre rempli d'eau bouillie. La membrane sporangiale se rompt et les spores sont mises en liberté dans l'eau. Après quelques heures de séjour dans l'eau, les spores augmentent de volume. On prélève au moyen d'une anse de platine une gouttelette du liquide qu'on étend par strie sur un porte-objet nettoyé et stérilisé au préalable. On examine au microscope la trainée liquide. Si elle ne contient qu'une seule spore elle peut servir à la culture ; si au contraire elle en renferme plusieurs, on en essuie une partie au moyen d'un fragment de papier buvard jusqu'à ce qu'il ne reste plus qu'une seule spore. Mais toutes ces manipulations doivent être contrôlées par l'examen microscopique. On dépose alors sur la spore une goutte de liquide nutritif et on place la préparation dans une chambre humide.

### CULTURES EN ANAÉROBIOSE

Nous sommes en présence de quatre catégories de procédés basés :

1° *Sur l'ébullition.* — Utilisé autrefois par PASTEUR, mais peu employés aujourd'hui

2° *Sur l'emploi de gaz inertes.* — On remplace l'air de la culture par un gaz inerte que l'on fait barboter dans le milieu.

L'azote est de beaucoup le meilleur des gaz à employer. On trouve d'ailleurs des bombes d'azote dans le commerce.

L'hydrogène est facilement utilisable, vu sa grande facilité de préparation;

3° *Sur l'extraction de l'air à l'aide de matières spéciales.*

a) *Trompe à eau.* — Le vide est insuffisant et doit être combiné avec l'action de gaz inertes. On fait cinq à six fois le vide et on fait rentrer cinq à six fois le gaz inerte.

Lorsqu'il s'agit de tubes, tenir à la main : la température du corps est suffisante pour provoquer l'ébullition. L'air chassé se dissout dans le milieu;

b) *Trompe à mercure.* — On possède aujourd'hui des trompes à mercure fournissant un vide excellent, mais ces instruments sont coûteux;

4° *Sur l'emploi de substances ou de bacilles capables d'absorber l'oxygène.*

a) *Bacille réducteur.* — Exemple : le *Bacillus subtilis* qui forme rapidement un voile et absorbe l'oxygène du milieu.

b) *Substances réductrices diverses :*

KITASATO ajoute 0,3 à 0,5 % de formiate de soude;

SALOMONSEN ajoute du sulfoindigodate de soude, 0,1 %;

D'autres auteurs, du *pyrogallate de soude*, d'autres enfin du *phosphore*.

TAROZZI montre que, si à un tube de bouillon ou de gélose ordinaire (donc peu propice au développement des anaérobies), on ajoute un fragment d'organe, de préférence parenchymateux fraîchement enlevé à un animal, les milieux demeurent très favorables pour la culture des anaérobies. Dans ce cas, on ne chauffe pas à 100° le morceau d'organe, mais on ajoute aux milieux ordinaires de l'extrait glyciné de foie tyndalisé à + 55°.

On a également obtenu des résultats satisfaisants avec des tissus végétaux.

*Milieux solides.* — Le dispositif que nous donnons ici est celui de BUCHNER.

Il comporte un tube à essai, un autre tube plus grand, un

support. On peut se contenter d'un petit tube à essai disposé dans un tube de Roux utilisé pour la culture sur carotte ou pomme de terre.

A cet effet : 1° on sème le tube de culture qui peut être de la gélose, de la gélatine, du bouillon, etc. ;

2° On verse au fond du grand tube quelques centimètres cubes de la solution d'acide pyrogallique, préparée immédiatement avant l'usage (1 gramme d'acide pyrogallique sera suffisant pour absorber l'oxygène contenu dans 100 centimètres cubes d'air. En réalité, il est bon de quadrupler cette dose);

3° On ferme le grand tube à air avec un bouchon de caoutchouc, luté à la cire. Il est indispensable que cette manipulation soit rapidement exécutée pour favoriser l'absorption de l'oxygène.

On peut remplacer le grand tube par une cloche à vide si on le désire.

*Milieux liquides.* — La pipette de Roux pour anaérobies se compose d'une partie renflée terminée d'un côté par une effilure de pipette, de l'autre par un tube de verre portant deux étranglements; entre ces deux derniers on dispose d'une petite bourre de coton.

*Mode d'emploi.* — 1° On sème un tube de bouillon;

2° On flambe l'effilure de la pipette, on la casse et on flambe à nouveau.

3° On aspire le bouillon dans la pipette presque aux deux tiers. On ferme l'effilure à la lampe;

4° On met la pipette en communication avec la trompe à eau et on fait le vide;

5° Sous le vide fermer à la flamme la pipette à l'étranglement supérieur.

Si l'on désire faire ensuite un prélèvement on lime la partie étranglée du verre au-dessus du tampon et on ouvre. Il peut se produire une projection. Avoir bien soin de diriger l'orifice de la pipette de façon que la projection du milieuensemencé ne puisse causer aucun accident. Enlever le tampon et prélever aseptiquement avec une pipette.

On peut sans difficulté continuer la culture dans un vide relatif en chauffant très doucement l'espace libre au-dessus du liquide. L'air chauffé se dilate et s'enfuit de l'ampoule. On ferme ensuite à la lampe.



Nous n'insisterons pas davantage sur les méthodes nombreuses pouvant conduire à une anaérobiose plus stricte, l'outillage ordinaire du pharmacien ne lui permettant pas de les réaliser toutes.



Fig. 2  
Culture en tube  
avec fermeture  
anaérobie d'a-  
près Wright-  
Burri.  
2/3 grand. natur.

*Culture sous l'huile de vaseline.* — L'huile de vaseline ne s'oppose pas au passage des bulles de gaz, mais elle ne dissout pas d'oxygène et par suite isole la culture de l'air extérieur.

A cet effet :

1° Prendre un grand tube à essai, verser d'abord du bouillon sur une hauteur de 10 à 12 centimètres, puis, au-dessus, de l'huile de vaseline sur 12 à 15 millimètres d'épaisseur. Boucher au coton ;

2° Placer au bain-marie pendant vingt minutes et refroidir ou encore stériliser à l'autoclave en ayant soin de refroidir rapidement ;

3° Ensemencer le tube en prélevant des germes au moyen d'une pipette ordinaire. Plonger la pointe dans le bouillon et laisser couler.

NOTA. — Faire bien attention de ne pas introduire de bulle d'air en même temps que le champignon à ensemer.

Pour faire un prélèvement il suffit de plonger une pipette ordinaire, à travers la couche d'huile, dans le bouillon, en employant les précautions habituelles.

A l'huile de vaseline on peut substituer la lanoline fusible à 42°.

La lanoline forme un bouchon au-dessus du milieu liquide.

TAROZZI ajoute dans du bouillon ordinaire un fragment d'organe (foie, etc.) recueilli directement. Ensemencer avant sans autre préparation.

DISPOSITIF POUR ENSEMENCEMENT DES MILIEUX SOLIDES PAR PIQURE. — *Tube de Veillon.* — 1°

On prépare de la gélose ou de la gélatine que l'on additionne de glucose, 1,5 %. On répartit dans de grands tubes de façon que le culot de gélatine ou de gélose atteigne 10 à 12 centimètres de hauteur.

Placer à l'autoclave ;

2° Faire bouillir les tubes au bain-marie et maintenir l'ébullition pendant quinze à vingt minutes. Laisser prendre en masse;

3° Ensemencer par piqure profonde.

Les anaérobies stricts commencent à se développer à partir de 2 ou 3 centimètres de la surface.

TECHNIQUE DE WRIGHT-BURRI. — La fermeture assurant l'anaérobiose (d'après WRIGHT-BURRI, fig. 2) se fait de la façon suivante :

L'ensemencement étant effectué de la manière accoutumée, on pousse le bouchon d'ouate qui ferme le tube, au moyen d'une baguette de verre, dans le tube jusqu'à environ 1 centimètre du milieu de culture. On introduit au-dessus de ce tampon mis en place un tampon d'ouate hydrophile non stérile assez lâche dont la partie supérieure sera environ à 2 centimètres du bord du tube. Sur ce tampon on fait couler successivement 2 centimètres cubes de la solution d'acide pyrogallique, puis 2 centimètres cubes de potasse et l'on ferme immédiatement avec un bouchon en caoutchouc s'adaptant hermétiquement à l'orifice du tube, que l'on peut, si c'est nécessaire, boucher plus complètement en y coulant de la paraffine. Dans ce genre de culture on donnera à la surface de la gélose inclinée un étalement moindre qu'à l'ordinaire. Cette technique est très pratique. Veut-on repiquer, on enlève d'abord le bouchon en caoutchouc, ensuite l'ouate imprégnée de pyrogallol (employer une forte pince et la retirer en la tournant) que l'on mettra de côté et enfin l'ouate stérile que l'on ramène à sa position première. Lorsque l'on opère avec quelques précautions les cultures ne sont jamais souillées par le pyrogallol.

---

## CHAPITRE IX

### PROCÉDÉ D'ÉTUDE DES PRODUITS FORMÉS DANS LES CULTURES

---

Les champignons inférieurs peuvent donner naissance à certaines substances qu'il est intéressant de connaître et de pouvoir déceler.

Il sera intéressant, par exemple, de rechercher dans les cultures les albumoses, les peptones, les acides-aminés, la mucine, les matières colorantes; certains gaz, l'acide sulfhydrique, que produisent un grand nombre de microorganismes en réduisant le soufre surtout contenu dans les composés albuminoïdes, l'ammoniaque, les nitrates et les nitrites, qui proviennent de différents stades de transformation de la matière azotée; certaines amines, la triméthylamine particulièrement, la tyrosine et la leucine, les acides organiques; les alcools et plus particulièrement l'alcool éthylique; les aldéhydes, les mercaptans le tryptophane, l'indol, le phénol et le scatol.

#### Action sur les composés sucrés et azotés.

Tous les aliments ne sont pas directement assimilables pour les êtres vivants; ils doivent subir au préalable une transformation moléculaire qui s'opère sous l'action de substances entières secrétées par l'organisme, et auxquelles on donne le nom d'enzymes.

DuCLAUx a réussi à déceler dans l'*Aspergillus niger* la sucrase et l'amylase; BOUQUELOT y a démontré en outre la sécrétion de

trehalase, d'émulsine, d'inulase et de trypsine. Nous n'envisageons ici la recherche que d'un petit nombre de ces enzymes, particulièrement ceux d'un intérêt biologique ou industriel, la trypsine, la présure et la caséase parmi les ferments protéolytiques; la zymase alcoolique, la sucrase, la maltase, la lactase et l'amy-lase parmi les ferments des hydrates de carbone.

### Trypsine.

Elle transforme l'albumine en albumose de peptone. Pour préparer le milieu réactif, on prend parties égales d'albumine d'œuf de poule frais et d'eau distillée, on agite vivement, on passe sur un carré de tarlatane pour séparer les membranes, on répartit dans des tubes inclinés et on stérilise par tyndallisation à 100°. Les tubes sont examinés un mois après leur inoculation. S'il y a présence de trypsine, le blanc d'œuf devient transparent se liquéfie peu à peu et la liqueur filtrée donne la réaction du biuret (lessive de soude : 4 cc. + quelques gouttes de solution de sulfate de cuivre à 1 p. 100 dans 1 cc. = coloration violette).

### Présure et caséase.

La préparation du lait qui sert à la recherche de ces ferments se réduit, après écrémage, à une simple stérilisation à 110°. Après quinze jours de culture, le milieu a subi : A) soit une coagulation (qui provient parfois de la transformation du lactose en acide lactique, mais qui sera due à la présure si elle se produit dans un second essai avec du lait contenant du carbonate de chaux pur et précipité, destiné à neutraliser l'acide au fur et à mesure de sa production); B) *soit une peptonification*. Les flocons de caséine sous l'action de la caséase disparaissent peu à peu pour donner naissance à un liquide jaunâtre un peu visqueux et opalescent. Mais ce ferment peut être seul produit par le champignon, le lait sans se coaguler se transformera, peu à peu en un liquide transparent et jaunâtre (GRIMBERT). C'est encore ce qui se produit lorsque la caséase plus abondante que la présure masque la présence de cette dernière en peptonifiant la caséine avant que la présure puisse agir.

### Zymase alcoolique.

Pour l'étude de ce ferment et des suivants nous conseillons l'emploi du liquide de Raulin neutre, non sucré additionné de 5 p. 100 d'hydrate de carbone que l'on repartit, dans de petits matras. On stérilise par tyndallisation à  $+ 80^{\circ}$  pour éviter l'altération de certains sucres, et après inoculation on laisse à l'étuve à  $37^{\circ}$  pendant 15 jours. Nous n'analyserons par ici les produits complexes qui ont pu se former; nous constaterons seulement, par des réactions simples, les changements survenus dans la composition du milieu. Le Raulin glucosé, s'il y a sécrétion de zymase alcoolique, contient de l'alcool que nous mettrons ainsi en évidence : 10 cc. de la liqueur distillée sont divisés en deux parts. On ajoute : à l'une 1 goutte de bichromate de potasse au 1/10 + 5 gouttes d'acide sulfurique et l'on chauffe : la coloration passe du jaune au vert; à l'autre 1 cc. d'iodure de potassium au 1/10 + 10 gouttes de lessive de soude et goutte à goutte de l'hypochlorite de soude; il se forme de l'iodoforme reconnaissable à son odeur et à l'examen microscopique (lamelles hexagonales). (Voir page 68 pour rechercher des traces d'alcool).

### Sucrase.

Produit l'interversion du saccharose. Le lévulose formé est levogyre et son pouvoir rotatoire est en valeur absolue beaucoup plus élevé que celui du glucose; ils réduisent toutes les deux la liqueur de Fehling. Les propriétés optiques et reductrices de la solution indiquent nettement la réaction.

### Maltase.

Dédouble le maltose en deux molécules de glucose.

Le pouvoir rotatoire du premier est de  $+ 138^{\circ},38$ , celui du second :  $2 \times + 52,74$ ; la rotation à droite de la solution est diminuée, mais on a une augmentation du pouvoir réducteur, ce dernier étant pour le maltose les 2/3 environ de celui du glucose.

### Lactase.

Hydrolyse le lactose et donne du glucose et du galactose. Ces trois sucres sont dextrogyres. Le pouvoir rotatoire du galactose

étant un peu plus élevé que celui des deux autres, la rotation à droite sera légèrement supérieure; mais pour plus de certitude nous conseillons d'employer la phénylhydrazine qui, dans les cas précédents, peut aussi être utile. La présence de glucosazone se formant à chaud, soluble dans l'alcool méthylique et l'acétone diluée au demi complètera heureusement l'examen polarimétrique.

### Amylase.

Sous l'action de cet enzyme, la gelée d'amidon, de consistance demi-solide, se désagrège peu à peu et donne naissance à un liquide clair ou opalescent qui avec l'eau iodée prend une teinte successivement violacée, rouge (erythro-dextrine) et jaune. Quand on n'obtient plus de coloration, l'amidon se trouve remplacé par un mélange de dextrines (achrodextrines) et de maltose.

*Procédé général pour la recherche des enzymes* (SARTORY Jourde). — Nous employons pour la recherche des enzymes un cristallisoir humide, recouvert d'un vase plus large à fond bombé; dans une tubulure latérale passe un tube recourbé, dont la branche verticale descend jusqu'au fond du cristallisoir, le bout extérieur du tube étant muni d'un raccord de caoutchouc que bouche une baguette de verre. On garnit de coton cardé la tubulure et l'espace existant entre les parois des deux vases. Pour faciliter le maniement de l'appareil dans l'espace annulaire on insère quelques tronçons de tube de caoutchouc, qui assurent un calage parfait. On stérilise le tout à l'autoclave à  $+120^{\circ}$ . D'autre part, on dispose un ballon contenant 50 cc. de Raulin et dont le bouchon est traversé de deux tubes : l'un coudé à angle droit pénètre légèrement à l'intérieur, l'autre plonge jusqu'au fond du liquide; l'un et l'autre sont fermés par un peu de coton. Le tout étant stérilisé, on ensemente avec des conidies de la Mucédinée. Pour transvaser aseptiquement le liquide dans le cristallisoir, on retourne le ballon, le col en bas, le tube coudé à angle droit du ballon relié au tube du cristallisoir. Trois jours après, on soutire à l'aide d'un siphon par ce même tube du cristallisoir le liquide qui se trouve sous le voile. Sans déchirer ce dernier et opérant comme précédemment, on renouvelle une seconde fois le liquide de Raulin que l'on siphonne à nouveau après trois jours. Le voile est enfin lavé pendant 5 à 6 heures à



l'eau distillée, dont on remet 50 cc. en contact avec la culture pendant 48 heures. La plante abondamment nourrie, se trouvant ainsi privée de substances nutritives, commence à utiliser ses réserves; les diastases sont alors sécrétées en grande quantité et se dissolvent dans le liquide sous-jacent, qui ne contient en outre qu'un peu de matière organique et des traces de sels minéraux. Le liquide est filtré aseptiquement, il est réparti par dose de 5 cc. dans des tubes contenant, soit de petits cubes d'albumine coagulée ou de fromage blanc, soit du lait additionné de  $\text{Co}^3$  ca et de 2 % de  $\text{CaCl}^2$ , soit 20 cc. de solution à 5 % de glucose, saccharose, lactose ou maltose, soit enfin de l'empois d'amidon à 5 % et stérilisés au préalable par tyndallisation. Tous ces mélanges seront laissés quatre jours à l'étuve à  $+ 37^\circ$  et analysés d'après les méthodes indiquées pour les cultures directes. Des tubes témoins dans l'un et l'autre cas serviront de termes de comparaison.

Par ce procédé nous n'obtenons que les diastases extra-cellulaires, celles qui émigrent en dehors de la membrane et se dissolvent dans le liquide ambiant.

Pour obtenir les diastases intra-cellulaires il est nécessaire de déchirer les parois de la cellule en broyant le thalle avec du sable et de l'eau.

#### Recherche de la mucine.

La mucine n'est pas coagulée par l'ébullition. Elle précipite par tous les acides; le coagulum se redissout dans un excès d'acide minéral, mais pas dans un excès d'acide organique. Les sels neutres les précipitent. Elle se colore en rouge violacé ou jaunâtre par le réactif de Millon. Elle précipite par l'acide acétique (en l'absence de sels neutres) précipité insoluble dans un excès d'acide. L'acide chlorhydrique ou l'acide azotique la précipitent, mais ce précipité est soluble dans un excès de réactif.

#### PRODUITS DE FERMENTATION AUX DÉPENS DE L'ALIMENT HYDROCARBONÉ

Pour l'étude des produits de fermentation aux dépens de l'alimentation hydrocarboné on peut employer les milieux sucrés carbonatés.

La marche à suivre pour analyser le produit fermenté comprend :

1° Distillation d'une partie du milieu sans aucune addition (produits neutres).

2° Addition d'acide oxalique à une deuxième partie du milieu par distillation fractionnée de Duclaux (acides volatils);

3° Recherche des produits fixes sur le résidu de la distillation fractionnée.

Pour l'étude des produits de fermentation seuls on aura avantage à employer les milieux tels que le Raulin sans sucre. On additionnera au moment désirable avec l'hydrate de carbone à étudier au point de vue de sa fermentation.

### **PRODUITS VOLATILS NEUTRES : ALCOOLS, ALDÉHYDES, CÉTONES, ETC.**

(D'après GRIMBERT).

1° Déterminer la densité du liquide ou son degré alcoolique en notant la température;

2° Soumettre à l'épreuve du compte-gouttes de Duclaux;

3° Rechercher la réaction de l'iodoforme par l'ammoniaque et la solution d'iode à froid (acétone) et à chaud (alcool éthylique);

4° Rechercher l'acétone par le réactif de Denigès (sulfate mercurique);

5° Rechercher les aldéhydes par la réaction de la fuchsine bisulfitée;

6° Essayer la réaction de Legal (nitroprussiate de soude + acide acétique);

7° Essayer l'action du liquide sur la liqueur de Fehling : 1° à froid; 2° à l'ébullition;

8° Essayer l'action sur le nitrate d'argent;

9° A 20 centimètres cubes du liquide distillé ajouter 20 gouttes de phénylhydrazine et 20 gouttes d'acide acétique cristallisable, puis chauffer au bain-marie pendant une demi-heure. S'il se forme une osazone la recueillir sur un filtre sans plis, la laver à l'eau d'abord, puis à l'alcool méthylique. Introduire une parcelle dans un tube à essai avec quelques centimètres cubes d'un mélange à parties égales d'alcool et d'éther et verser 3 à 4 gouttes de perchlorure de fer très étendu. Si le liquide éthéro-alcoolique se colore en rouge sang on laisse déposer et si, par évaporation spontanée, il se forme des aiguilles rouges, on peut affirmer que c'est l'osazone de l'acétylméthylecarbinol.

### Recherche de traces d'alcool.

(Procédé PASTEUR).

Chauffer le liquide soit dans une cornue, soit dans un flacon à col long et observer l'aspect des premières gouttelettes qui se déposent.

S'il y a de l'alcool en petite quantité les gouttelettes se montrent sous la forme de larmes ayant une queue allongée, ou sous l'aspect de gouttes bien rondes : ces larmes et gouttes ressemblent à un liquide huileux.

On a préconisé aussi le procédé suivant :

Mettre 5 centimètres cubes du liquide à éprouver dans un vase à réaction de 180 millimètres de long et 24 millimètres de diamètre. Fermer avec un bouchon de liège portant un tube de verre de 80 centimètres de long et 3 millimètres de diamètre. Placer le tube verticalement sur une toile métallique et chauffer lentement afin d'éviter les soubresauts. S'il y a de l'alcool, on apercevra les gouttes huileuses caractéristiques dans le tube montant plus ou moins haut suivant la proportion d'alcool.

### Recherche de l'alcool et de l'aldéhyde.

C'est principalement l'alcool éthylique que l'on cherche à déceler. Pour cela on distille le milieu dans lequel on désire rechercher l'alcool. Le produit résultant de la distillation est additionné d'une solution aqueuse d'iode à 10 % avec quantité suffisante d'iodure de potassium et d'un excès de lessive de soude. Dans ces conditions, nous obtenons un précipité jaune clair formé de cristaux étoilés hexagonaux d'iodoforme à odeur caractéristique dans le cas où le milieu contient de l'alcool éthylique.

L'aldéhyde et l'acétone peuvent être décelés par le même procédé. Dans ces deux derniers cas la réaction est instantanée.

On peut rechercher l'aldéhyde en employant une solution aqueuse de fuchsine décolorée par l'anhydride sulfureux. On ajoute en parties égales la solution et du liquide à examiner. S'il y a de l'aldéhyde, on remarque immédiatement une coloration rouge.

L'acétaldéhyde est caractérisée par l'odeur et aussi par la réaction de Rimini (nitroprussiate de soude et diéthylamine).

### Recherche des phénols.

La recherche est effectuée sur le distillat.

Le milieu est additionné de 50 parties d'acide sulfurique pour 1.000 du milieu, afin de favoriser la distillation des phénols combinés avec d'autres substances :

1° Le distillat obtenu est neutralisé par la soude ; les phénols sont précipités par l'eau de brome. Si les phénols sont en quantité insignifiante le liquide se trouble légèrement ;

2° Au produit de distillation on ajoute du réactif de Millon et on chauffe ; le mélange devient rouge en présence du phénol ;

3° Le distillat fixe l'iode s'il renferme des phénols ;

4° Le liquide alcalinisé par la soude est agité avec l'éther ; ce dernier est évaporé dans un verre de montre et le résidu traité par la solution alcoolique de perchlorure de fer prend une teinte violacée s'il contient du phénol.

### Recherche des acides organiques <sup>(1)</sup>.

Les acides organiques étant solubles dans l'éther, on acidifie le liquide avec de l'acide sulfurique pur et on agite avec plusieurs volumes d'éther pur. L'éther est ensuite décanté et évaporé à l'air, après addition de quelques gouttes d'eau. Après essai au perchlorure de fer, on transforme en sel de zinc, de plomb ou de chaux et l'on suit les méthodes d'analyses ordinaires.

**ACIDE BUTYRIQUE.** — Pour reconnaître aisément la présence d'acide butyrique il suffit d'ajouter au produit 0<sup>cm3</sup> 5 d'alcool et 10 gouttes d'acide sulfurique, on chauffe : il se produit de l'éther butyrique (butyrate d'éthyle à odeur caractéristique d'ananas).

---

1. Pour la recherche des acides volatils, on additionne le milieu d'acide oxalique, puis on utilise la méthode de distillation fractionnée de DUCLAUX. Si les acides volatils sont en faible quantité, ce qui est fréquent, opérer sur des quantités cinq ou dix fois plus fortes, par exemple 500 centimètres cubes ou 1 litre.

On peut remplacer l'acide oxalique par l'anhydride phosphorique.

Le reste du liquide de distillation fractionnée est neutralisé par du carbonate de chaux pour éliminer l'acide oxalique. On filtre, on concentre pour amener à un faible volume, on épuise à l'éther après addition d'acide chlorhydrique. L'éther est distillé et le résidu chauffé au bain-marie pour chasser les traces d'acides volatils restés. Le résidu est constitué par les acides fixes (rechercher les acides succinique, lactique, etc).

ACIDE LACTIQUE. — 1° *Réaction colorée.* — A une goutte d'une solution alcoolique lactique placée dans un tube à essai bien sec, ajouter 5 centimètres cubes d'acide sulfurique concentré et 3 gouttes d'une solution saturée de sulfate de cuivre. Agiter, plonger au bain-marie bouillant durant cinq minutes. Refroidir rapidement en ajoutant 2 gouttes d'une solution alcoolique (2 grammes par litre) de thiophène. Agiter et chauffer à nouveau mais légèrement.

Nous aurons une *coloration rouge cerise*.

2° Transformation de l'acide lactique par un sel de zinc en *lactate de zinc*.

ACIDE FORMIQUE. — 1° Le formiate de soude donne avec l'azotate d'argent un précipité blanc noircissant par le chauffage;

2° L'acétate neutre de plomb donne un précipité blanc cristallin;

3° Avec le chlorure ferrique nous obtenons une coloration rouge virant au jaune par l'acide chlorhydrique.

ACIDE ACÉTIQUE. — 1° Avec le chlorure ferrique les acétates donnent les mêmes réactions que les formiates;

2° Un petit fragment d'acétate de sodium chauffé avec une quantité égale d'anhydride arsénieux pulvérisé donne naissance à une odeur alliagée caractéristique d'oxyde de cacodyle.

ACIDE SUCCINIQUE. — *Cristaux en prismes.* — Rechercher le point de fusion. Par chauffage, vapeurs blanches irritantes.

### Recherche de l'hydrogène sulfuré.

On peut reconnaître l'hydrogène sulfuré à l'odeur particulière qu'exhale ce gaz. Mais il est préférable d'avoir recours aux réactifs chimiques. Au contact de l'acide sulfhydrique et suivant sa proportion, le papier à l'acétate de plomb brunit et devient finalement noir. Une dissolution alcaline d'oxyde de plomb dans la potasse donne un papier plus sensible que l'acétate. Un excellent réactif est le nitroprussiate de soude en solution alcaline.

Le milieu de Morris (gélose peptonisée additionnée d'acétate de plomb) est à rejeter.

### Réaction de l'indol.

La réaction de l'indol positive ou négative est un caractère couramment utilisé. La présence de l'indol peut servir à la diagnose d'espèces difficiles à différencier.

Le tryptophane étant la substance mère de l'indol, il en résulte que c'est aux milieux synthétiques à base de tryptophane et aux milieux peptonés qu'il est nécessaire de s'adresser pour mettre en évidence la fonction indologène des microbes. Il est indispensable toutefois que la peptone dérive d'un protéique tryptophanique. De plus, les aliments tryptophaniques doivent être offerts aux micro-organismes sous une forme convenable. Il en résulte la nécessité absolue d'effectuer une sélection dans le choix des milieux peptonés.

### Milieux préconisés.

#### 1<sup>o</sup> Solution peptonée à 3 ou 5 ‰.

Formule.	Eau . . . . .	100 gr.
	Peptone . . . . .	3 à 5

Neutraliser.

#### 2<sup>o</sup> Solution de peptone additionnée de sels minéraux.

Peptone . . . . .	3 à 5 ‰
Sulfate de magnésie . . . . .	0,5
Phosphate de soude . . . . .	0,050
Eau . . . . .	100

Neutraliser.

*Notons ici que le glucose s'oppose à la production de l'indol.*

**CHOIX DE LA PEPTONE.** — 1<sup>o</sup> Faire une solution aqueuse à 3‰ ou 5‰ de peptone et sur une partie aliquote de cette solution effectuer la recherche de l'indol (Voir plus loin, p. 74).

2<sup>o</sup> Une peptone qui ne donnera pas cette réaction caractéristique pourra être utilisée pour le deuxième essai.

**Deuxième essai.** — Elle sera alorsensemencée avec du colibacille. Au bout de huit à douze heures on la soumettra à la recherche de l'indol qui cette fois devra être positive.

3<sup>o</sup> Donner toujours la préférence aux peptones pancréatiques



et ceci pour la raison bien simple que lors de la dislocation de la molécule protéique, la trypsine a poussé l'hydrolyse plus loin que la pepsine. Le tryptophane, presque complètement libéré de ses combinaisons, est attaqué beaucoup plus aisément par les microbes. Il s'ensuit une production plus rapide et plus intense d'indol.

On s'assure de la nature tryptique des peptones en traitant leur solution par l'eau de brome. Les peptones pancréatiques donnent en effet avec ce réactif une coloration rouge violacé intense passant au brun par un excès de réactif.

Suivant l'espèce que l'on désire expérimenter, on effectuera la culture à des températures de 20° à 25° ou + 37° C. On aura souvent avantage à faire végéter les germes dans des atmosphères de plus en plus pauvres en oxygène. Enfin les microorganismes attaquant les produits tryptophaniques étant de constitution fort variable, il est nécessaire de pratiquer la recherche de l'indol dans les cultures depuis l'apparition du louche (trouble) jusqu'au vingtième ou trentième jour.

#### Réaction dite de Salkowski.

On ajoute à 10 centimètres cubes d'une solution aqueuse d'indol 1 centimètre cube d'une solution de nitrite de soude à 0 gr. 20 par 1.000 grammes d'eau distillée. On agite, on additionne de quelques gouttes d'acide sulfurique, et on agite à nouveau. La liqueur se colore en rose ou en rouge suivant la concentration.

La coloration peut être très légère et alors masquée plus ou moins complètement par la nuance du bouillon. En ajoutant 1 ou 2 centimètres cubes d'alcool amylique pur et remuant doucement pour ne pas faire d'émulsion, on provoque la concentration de la matière rouge dans l'alcool amylique qui se teint en rose plus ou moins foncé. Il est bon d'essayer d'avance l'alcool amylique que l'on emploie, car les alcools amyliques ordinaires renferment souvent de notables proportions d'indol; il ne faut employer que des alcools amyliques purs rectifiés suffisamment qui ne donnent pas à eux seuls la réaction cherchée. Vérifier donc toujours l'alcool amylique au début d'une expérience (Nécessité d'un témoin).

CHOIX DE RÉACTIF. — I. *Procédé Denigès à la vanilline.* — On fait une solution de 0 gr. 20 de vanilline dans 100 centimètres cubes d'alcool à 95°.

De cette solution on ajoute de 1 centimètre cube à 5 centimètres cubes de la solution indolique.

On verse ensuite dans le mélange la moitié de son volume d'acide chlorhydrique pur ( $D = 1,17$ ), on agite

Il se développe une coloration rouge-éosine ou grenadine présentant dans le vert une large bande d'absorption.

II. *Procédé à la paradiméthylamidobenzaldéhyde* (1). — Nous recommandons ce procédé que nous considérons comme le procédé de choix vu son extrême sensibilité. Ce composé donne en milieu chlorhydrique, en présence d'indol, une magnifique coloration rouge violet.

#### Solution.

Paradiméthylamidobenzaldéhyde . . . . .	5 gr.
Alcool à 95°. . . . .	100

#### Modification Crossonini.

##### Solution A.

Paradiméthylamidobenzaldéhyde . . . . .	4 gr.
Alcool à 95°. . . . .	380
HCl. . . . .	80

##### Solution B.

A 10 centimètres cubes de culture on ajoute :

5 cm<sup>3</sup> de la solution A.  
et 5 cm<sup>3</sup> de la solution B.

Cette modification de CROSSONINI ne nous a pas paru bien nécessaire. En opérant ainsi on exalte, il est vrai, la sensibilité de la paradiméthylamidobenzaldéhyde, mais la réaction est suffisamment sensible sans avoir recours à cette complication.

Dans toutes nos recherches récentes, nous avons donné la préférence à la technique de PORCHER et GAUTIER, que nous résumons ici.

(1) EHRLICH, *Med. Woch.* 1901, N° 15.

EXTRACTION DE L'INDOL DES CULTURES A L'AIDE DE L'ÉTHÉR PURIFIÉ (1). — 1° N centimètres cubes de culture sont additionnés d'un volume d'éther  $\frac{N}{2}$  cm<sup>3</sup>. On agite vigoureusement, puis on décante. On répète cinq à six fois le traitement par l'éther en utilisant quantité suffisante d'éther pour obtenir  $\frac{N}{4}$  cm<sup>3</sup>.

Il est à remarquer que lors du traitement des cultures par l'éther on obtient souvent (surnageant la couche aqueuse) une gelée éthérée qu'il faut disloquer par l'addition de quelques gouttes d'alcool éthylique;

2° On réunit les différentes solutions éthérées. Elles doivent être limpides. Dans le cas contraire, ajouter quelques gouttes d'alcool;

3° A l'extract éthéré renfermant l'indol et les corps phénoliques on ajoute une petite quantité de NaOH normale pour retenir les phénols. Ceci fait, on introduit le mélange dans un ballon fermé par un bouchon à deux ouvertures. Par une ouverture le ballon est relié à un réfrigérant descendant et par l'autre à un ballon producteur de vapeur d'eau;

4° On distille l'éther au bain-marie;

5° Lorsque tout l'éther est distillé et qu'il ne reste plus dans le ballon qu'un liquide aqueux, on fait arriver un courant de vapeur d'eau pour entraîner l'indol;

6° Le distillat est constitué : a) par de l'éther pur saturé d'eau; b) par une couche aqueuse. On agite; la majeure partie de l'indol passe dans l'éther;

7° On décante et on enlève complètement l'indol du liquide par un deuxième lavage éthéré;

8° On effectue la réaction.

Dans un tube à essai rigoureusement propre, on met 2 centimètres cubes de la solution éthérée, puis on ajoute 0<sup>cm3</sup> 8 de

(1) Les impuretés contenues dans l'éther sulfurique ayant une grande importance sur la stabilité de la teinte rouge violacé obtenue dans cette réaction, il est indispensable de purifier l'éther avant de l'utiliser.

Pour cela :

1° Laver l'éther avec une solution d'acide sulfurique à 5 0/0;

2° Laver à l'eau distillée plusieurs fois;

3° Laver avec une solution aqueuse de KOH à 1202°;

4° Laver à l'eau distillée plusieurs fois.

Éviter aussi les émulsions pendant les lavages.

réactif; on mélange. Enfin on fait arriver à la partie inférieure 1 centimètre cube d'acide chlorhydrique pur.

A la surface de séparation, s'il y a de l'indol on voit se former un mince anneau coloré, anneau qui s'épaissit si on a agité.

On examine sur un fond blanc.

En général, quel que soit le réactif utilisé, il est bon de se conformer à la règle suivante. Faire trois essais dans trois tubes différents :

En opérant ainsi, on élimine les causes d'erreurs et notamment l'inconvénient qui pourrait résulter de la présence de très faibles traces d'indol dans la plupart des peptones commerciales.

Enfin on peut avoir intérêt à diagnostiquer rigoureusement l'indol dans les cultures. A cet effet, on évapore lentement l'extrait éthéré (ne pas dépasser 40° C.). On reprend le résidu par quelques gouttes d'eau, puis on ajoute un égal volume d'H<sup>2</sup>O<sup>2</sup> à 100 volumes. On porte le tout au bain-marie. Lorsque le liquide est devenu jaune verdâtre on fait un extrait au moyen de l'alcool amylique, on lave à l'eau, puis on ajoute quelques gouttes de lessive alcaline. Après agitation, la liqueur devient bleue par suite de la formation d'indigo.

#### Recherche des mercaptans.

On traite par un peu d'éther qui est décanté, puis évaporé. Les mercaptans peuvent se reconnaître facilement par leur odeur alliée particulière et la couleur des précipités qu'ils sont susceptibles de donner avec les sels métalliques.

Si on dissout une petite quantité d'isatine dans l'acide sulfurique concentré, on obtient une solution couleur vert pré si on y fait passer un courant de mercaptan gazeux.

#### Recherche du tryptophane.

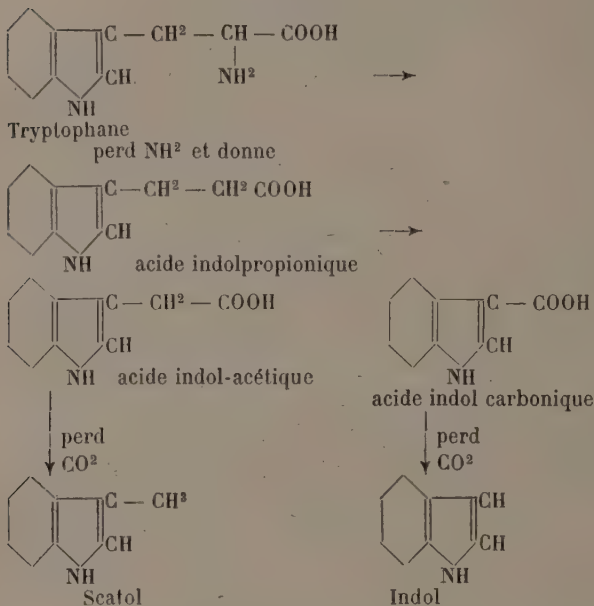
1° En traitant par l'eau bromée ou l'eau chlorée il se produit une coloration rouge violet;

2° La solution, chauffée avec de l'acide chlorhydrique et un peu de saccharose, prend une coloration rouge violet. L'alcool amylique s'empare de la couleur.

Il est à noter que beaucoup de bactéries peuvent donner de l'indol et du scatol aux dépens du tryptophane (Voir Indol, p. 71).

Libre ou combiné, le tryptophane donne la réaction glyoxylique.

### Tryptophane et Indol.



### Recherche de l'ammoniaque.

On peut reconnaître l'ammoniaque à l'odeur, par l'emploi du papier de tournesol ou de curcuma humide, ou à l'apparition de vapeurs blanches en présence d'une baguette de verre imprégnée d'acide acétique cristallisable. Mais on se sert beaucoup du réactif de NESSLER, qui donne avec les milieux contenant de l'ammoniaque une coloration allant du jaune au brun-rouge, suivant la proportion (1).

(1) La Réaction de NESSLER est donnée également par certaines amines; une autre réaction, celle de TRILLAT et TUREL, qui peut servir à compléter la première est donnée par certaines amines. L'identification de l'ammoniaque, qui doit toujours être faite sur le distillat obtenu en présence de magnésie, est donc difficile à réaliser dans les milieux de culture. On peut utiliser l'action de l'hypobromite de soude, qui donne un dégagement gazeux. Toutefois, ce dégagement pourra se produire avec l'urée, l'acide urique, etc. Il n'est pas donné par les amines.

Il est aisé pour le pharmacien de doser l'ammoniaque produit. Il suffit de distiller en présence de magnésie et d'évaluer la quantité qui passe dans le distillat avec une solution titrée d'acide sulfurique.

**DOSAGE DE L'AMMONIAQUE.** — Le procédé le plus rigoureux de dosage de l'ammoniaque dans les cultures est le dosage par la magnésie calcinée à 40° dans le vide.

**DOSAGE DE L'AZOTE TOTAL.** — On utilise la méthode Kjeldahl modifiée par MAQUENNE et E. ROUX (on précipite le mercure par l'hypophosphite de soude).

#### Recherche de la triméthylamine.

Le réactif de Nessler donne, surtout lorsqu'il y a un excès d'amine, un précipité blanc brunissant assez rapidement. Le papier rouge de tournesol et celui de curcuma humide se comportent comme avec l'ammoniaque.

Pour les amines, on peut employer la réaction d'HOFFMANN avec le chloroforme et l'alcool sodé.

#### ACTION SUR LES NITRATES (1)

Quelques champignons, un grand nombre de bactéries réduisent les nitrates alcalins en nitrites; d'autres les décomposent avec dégagement d'azote. Ce sont ces derniers qu'on désigne sous le nom de ferments dénitrifiants.

Ils se divisent en deux groupes :

I. Ferments dénitrifiants directs, qui décomposent le nitrate de potasse en solution peptonée;

II. Ferments dénitrifiants indirects, qui n'attaquent le nitrate de potasse que lorsqu'il est en solution dans le bouillon. Cette particularité tient aux actions secondaires exercées par l'acide nitreux sur les matériaux amidés du bouillon.

Pour étudier cette réduction, on prépare :

---

1° Il peut être utile de recourir à ce procédé pour les champignons vénéneux, certains se montrant réducteurs pour les nitrates.



*Solution A.*

Nitrate de potasse . . . . .	1 gr.
Peptone sèche . . . . .	1
Eau distillée . . . . .	100 cm <sup>3</sup>

*Solution B.*

Nitrate de potasse . . . . .	1 gr.
Bouillon . . . . .	100 cm <sup>3</sup>

Bouillon : 1 partie de viande, 2 parties d'eau à 1 % de peptone, 0 gr. 5 % de chlorure de sodium. Neutraliser exactement. Préparer ce bouillon comme il est dit au chapitre Milieux de culture.

On ensemece un tube de chaque solution avec la bactérie ou le champignon à étudier.

Si les deux solutions donnent un dégagement gazeux, le microbe est un ferment dénitrifiant vrai (exemple : *B. pyocyanique*). Si le bouillon nitraté fermente seul, le microbe est un ferment dénitrifiant indirect (exemple : *B. d'Eberth*, *B. coli*).

Dans les deux cas il faudra rechercher dans les solutions la présence des nitrites au moyen du réactif de GRIESS.

## Réactif de Griess.

*Solution A.*

Chlorhydrate de naphtylamine . . . . .	0 gr.20
Acide chlorhydrique . . . . .	1 cm <sup>3</sup>
Eau distillée . . . . .	100

*Solution B.*

Acide sulfanilique . . . . .	1 gr.
Eau distillée . . . . .	100 cm <sup>3</sup>

On ajoute à la culture 1 centimètre cube de chaque solution et on agite. S'il y a des nitrites, on obtient une coloration rouge plus ou moins intense.

### Recherche des nitrites.

On recherche les nitrites dans les milieux additionnés au préalable d'un peu de nitrate de potasse; les cultures doivent rester quelques jours à l'étuve. On peut employer l'empois d'amidon très faible, additionné de 0 gr. 5 % d'iodure de potassium et de quelques gouttes d'acide acétique (1). S'il y a des nitrites on observe une coloration bleu-noir tirant sur le violet. On peut également employer la réaction de la métaphénylène-diamine qui est très sensible. Pour cela on ajoute un peu de solution du produit et quelques gouttes d'acide sulfurique étendu : en présence de nitrites il se forme une coloration jaune.

RICHARD préconise le procédé suivant que nous recommandons aussi. Une goutte de solution de nitrite est mélangée sur une petite soucoupe blanche avec une goutte d'acide chlorhydrique pur; puis on ajoute un fragment de brucine; après cinq minutes on obtient une coloration allant du rouge vermillon au jaune clair. Rien ne se produit avec les nitrates dans les mêmes conditions.

### RECHERCHE DES COMPLEXES AZOTÉS

#### - Glycocolle.

1° La solution aqueuse se colore en rouge par le chlorure ferrique comme celle des formiates;

2° La solution aqueuse chauffée légèrement avec l'hydrate de cuivre donne par suite de la dissolution du sel une liqueur bleu foncé. Le liquide filtré concentré donne des aiguilles de glycollate de cuivre.

#### Recherche de la leucine et de la tyrosine.

La leucine se reconnaît à l'examen microscopique, à ses sphérocristaux ou aux masses globulaires caractéristiques

---

1) Ce réactif, pas plus que celui de TROMMSDORF, n'est spécifique pour les nitrites et la réaction est positive lorsqu'il y a passablement de chlorures dans le liquide à analyser. Le réactif de GRUESS est spécifique, mais la coloration rose est plus ou moins fugace.

Pour la recherche de la tyrosine, on peut employer le réactif de MILLON, on chauffe légèrement et on obtient une coloration rouge. Nous préférons la réaction de PINA.

Dissoudre un peu de tyrosine dans une ou deux gouttes d'acide sulfurique concentré, chauffer au bain-marie pendant dix minutes, étendre de 2 ou 3 centimètres cubes d'eau, neutraliser l'acide en faisant bouillir avec une pincée de carbonate de baryte, filtrer. La solution incolore donne avec une solution étendue de perchlorure de fer une belle coloration violette. L'examen microscopique est également un très bon moyen pour déceler la tyrosine. Le dépôt est traité sous la lamelle par une faible quantité d'acide chlorhydrique. Aussitôt la tyrosine cristallise en petites aiguilles groupées en faisceaux ou en étoiles dont l'aspect est très caractéristique.

On peut aussi employer la tyrosinase, qui donne une coloration brune particulière.

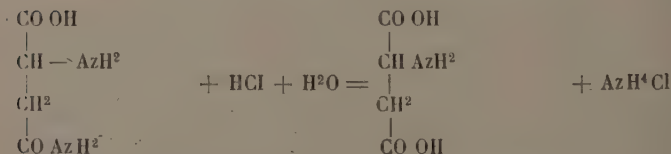
#### Phénylalanine.

On chauffe dans un tube à essai une petite quantité du corps avec 2 centimètres cubes d'eau, 10 gouttes d'acide sulfurique concentré et un cristal de bichromate de potasse. Le liquide brunit et dégage l'odeur de l'aldéhyde phénylacétique qui rappelle celle de l'essence de rose.

#### Dosage de l'asparagine.

On chauffe pendant une heure à feu nu dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux, 20 centimètres cubes de la solution d'asparagine à doser, avec 2 centimètres cubes d'acide chlorhydrique concentré.

L'asparagine est transformée en acide aspartique.



On distille dans le vide en présence de magnésie.

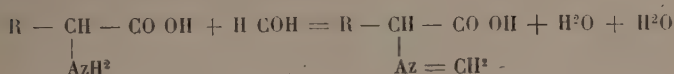
**Acide aspartique.**

1° Donne avec les sels de plomb un précipité blanc très peu soluble cristallisé;

2° Avec une solution saturée d'acétate de cuivre donne au bout de quelques instants un précipité bleu de ciel d'aspartate de cuivre qui cristallise en aiguilles.

**Dosage des acides aminés par la méthode de Soerensen.**

Les acides aminés, qui sont en général neutres, deviennent nettement acides et peuvent être titrés à la phénolphthaléine après que leur groupe aminé a été bloqué par fixation de formol.



Mesurer 10 centimètres cubes de solution d'acide aminé, ajouter 2 à 5 gouttes de phénolphthaléine, puis 10 centimètres cubes de la solution suivante :

Formol à 40 % . . . . .	4 partie	} Neutraliser cette solution
Alcool à 90° . . . . .	1 —	

Le mélange terminé, effectuer le titrage à la soude décime.  
Chaque centimètre cube de soude correspondra à :

0 gr.0075 de glycocolle.  
0 0089 d'alanine.  
0 0131 de leucine.  
0 0165 de phénylalanine.  
0 0131 de tyrosine.

## CHAPITRE X

### NETTOYAGE DES LAMES ET DES LAMELLES

---

1. LAMES NEUVES. — Pour les travaux très délicats employer toujours des lames neuves. Pour les frottis qui nécessitent des lames sèches, on dégraisse ces lames n'ayant jamais été utilisées dans de l'alcool ammoniacal à 5 % et, au sortir de ce liquide, on les essuie avec un linge fin non pelucheux.

P. MASSON conseille de plonger les lames neuves dans un mélange à parties égales d'alcool à 90° et d'acide chlorhydrique, puis de laver à plusieurs eaux. Finalement on les plonge dans l'eau distillée et on ne les sort qu'au moment du besoin.

2. LAMES USAGÉES. — On arrive à les nettoyer en les traitant par l'eau chaude et le savon pour les lames ou lamelles n'ayant jamais été imprégnées ni de baume, ni de résine, ni d'huile de cèdre. Pour les autres lames et lamelles recouvertes de ces différents produits résineux, il est souvent plus économique de les jeter plutôt que de se livrer à un nettoyage très ennuyeux et coûteux.

Cependant si on désire les faire resservir on peut les tremper pendant plusieurs jours dans le mélange suivant chauffé :

Bichromate de potasse . . .	100 grammes.
Acide sulfurique . . . . .	100 —
Eau . . . . .	1.000 —

On les lave ensuite à grande eau et on les conserve dans l'alcool. Nous recommandons le procédé suivant : les lames utilisées

---

sont mises dans un bain d'acide sulfurique concentré, chauffé de temps en temps. Ceci fait, on traite par le mélange chromique.

Pour les lames à l'huile de cèdre le nettoyage sera facilité en intercalant le traitement par la soude caustique.

LAMELLES. — Les procédés de nettoyage sont les mêmes que pour les lames, mais il est nécessaire de prendre de très grandes précautions, vu leur fragilité. L'épreuve de l'essuyage est délicate, on peut les essuyer à deux mains, en les tenant par la tranche entre le pouce et l'index gauches. Il est nécessaire aussi pour les lamelles de les laver à l'alcool acide, car elles sont parfois recouvertes d'un enduit blanchâtre adhérent. On les conserve ensuite dans l'alcool ordinaire jusqu'au moment de l'emploi.

---



## CHAPITRE XI

### FIXATION DES PRÉPARATIONS MICROSCOPIQUES

---

La fixation (1) des préparations cryptogamiques doit précéder la coloration. Elle a une très grande importance et se trouve trop souvent négligée par les mycologues, plus préoccupés du pouvoir pathogène d'un champignon inférieur que des moyens propres à caractériser l'espèce. Les fixateurs doivent tendre à tuer la cellule tout en lui conservant autant que possible l'aspect du vivant.

Le fixateur idéal n'existe pas.

MODES DE FIXATION UTILISÉS EN MYCOLOGIE. — Chaleur, alcool-éther, alcool méthylique, formol, picro-formol de Bouin, liquide de Lenhossek, liquide de Flemming, etc.

*Chaleur.* — a) Par passage dans la flamme. On passe la lame trois fois sur la flamme (le côté de la préparation à la partie supérieure) d'un geste lent. Éviter les arrêts ou les saccades. Tenir la lame à la main et non avec une pince : on se rendra mieux compte si la température n'est pas trop élevée. C'est un procédé très rapide qui, avec une grande habitude, donne de bons résultats dans l'examen courant;

---

(1) C'est le temps le plus délicat des préparatifs de la coloration. Avant d'effectuer cette fixation, il faut tout d'abord faire le frottis. Il importe de l'étaler en couches très minces.

b) Le débutant fixe souvent trop ou pas assez. Il faut avouer que, même avec une certaine habitude, la fixation obtenue par ce procédé n'est pas à l'abri de toute critique. Certaines parties de la préparation sont plus chauffées que d'autres. Aussi a-t-on préconisé avec juste raison l'emploi de la platine chauffante ou encore d'étuves réglées à  $+ 115^{\circ}$ .

Nous utilisons avec plein succès la platine chauffante de Radais et nous contrôlons la température en employant la résorcine comme indicateur. Nous mettons la lame à fixer à l'endroit où fond la résorcine. Nous fixons deux minutes (1).

La fixation par la chaleur nécessite la dessiccation préalable de la préparation; on ne doit, en effet, fixer par la chaleur que lorsque la préparation est sèche.

Cette méthode est à rejeter pour les recherches délicates de cytologie.

On opère alors sur des fragments humides qui sont fixés, soit par les fixateurs ordinaires de cytologie : liquide de Bouin, de TELLYESNICZKY, sublimé acétique, sublimé alcoolique ou plus simplement l'alcool méthylique ou l'alcool-éther.

*Prélèvement.* — Les liquides que l'on désire examiner sont puisés au moyen de pipettes stérilisées. Pour les confectionner, on coupe un morceau de tube de verre de 5 à 6 millimètres de diamètre en fragments de 20 centimètres de longueur (cinq fragments dans 1 mètre). On bouche les deux extrémités avec un tampon d'ouate. On stérilise à l'autoclave. On prépare ainsi une série de ces tubes que l'on peut étirer au moment du besoin.

Pour les prélèvements, faire un étranglement en arrière du coton sans le brûler, puis une effilure au milieu du tube, de façon à obtenir deux pipettes. Il est aisé ensuite de sceller les deux parties effilées et d'enfermer le prélèvement dans la partie renflée.

On peut se servir aussi avec avantage de la pipette à boule. Pour la confectionner on commence par fermer un morceau de tube en l'effilant. On chauffe fortement la partie moyenne et, lorsqu'elle est portée au rouge, on souffle la boule. On fait un étranglement en arrière qui servira à maintenir un petit tampon de coton.

---

1) La chaleur est un très mauvais procédé lorsque le milieu renferme de la glycérine ou des sucres. Nous lui préférons pour la pratique courante l'alcool-éther ou l'alcool méthylique.

La fabrication de ces pipettes est d'une simplicité extrême. Il faut avoir une flamme assez chaude, bien réglée et tourner continuellement le verre entre les doigts, tant qu'il est dans la flamme ; lorsqu'on sent au verre une souplesse suffisante, on le retire du feu, on étire et on souffle.

Le chalumeau à gaz est le meilleur, et c'est celui que nous conseillons. Faute de gaz il faudra employer la lampe à souder pouvant fonctionner à l'essence minérale.

---

## CHAPITRE XII

### CLASSIFICATION DES MÉTHODES DE COLORATION (1)

---

On peut distinguer deux grands groupes de colorations : les unes ont le pouvoir de teindre les objets d'une façon diffuse, les autres, au contraire, se fixent électivement sur certaines parties qu'elles mettent en évidence d'une façon tout à fait nette.

Seules ces colorations électives sont utilisées en microscopie ; elles sont spécifiques quand elles s'adressent spécialement à un élément ou un groupe d'éléments, elles sont dites *cytologiques* quand elles sont susceptibles de mettre en évidence des éléments particuliers du noyau ou du cytoplasme (chromosomes, mitochondries, etc.).

1° *Colorations directes.* — Ces colorations s'exécutent tout simplement par immersion dans le bain colorant.

2° *Colorations indirectes.* — Dans ce cas il est nécessaire que l'objet à colorer soit traité d'abord par une substance dite *mordante* qui l'apprête à recevoir le colorant. On nomme *laque* la combinaison que forme le mordant avec le colorant.

3° *Colorations progressives.* — Dans cette méthode, les solutions tinctoriales employées sont faibles et doivent rester assez longtemps sur les préparations. Au sortir du bain, celles-ci doivent avoir la teinte définitive que l'on désire obtenir. Il suffit

---

(1) Nous avons emprunté au livre de M. LANGERON la plupart des renseignements figurant dans ce chapitre.

pour cela de surveiller la coloration et de savoir l'arrêter au moment voulu, en entraînant par un lavage approprié l'excès du colorant non fixé par la préparation. Cette méthode peut être employée avec les couleurs d'aniline (bleu de méthyle, bleu colon, etc.).

D'une façon générale, chaque fois que l'on désire employer cette méthode il est indispensable de se servir de solutions n'ayant pas un pouvoir tinctorial intense.

4° *Méthode régressive*. — Dans cette méthode on colore l'objet et on pratique sa décoloration par un dissolvant approprié que l'on nomme *différenciateur*. Ici l'opérateur est maître de l'opération car le résultat final varie suivant l'insistance avec laquelle la différenciation est poussée.

5° *Colorations simples*. — Comme leur nom l'indique les colorations simples sont celles obtenues avec une seule *couleur simple*, acide ou basique.

6° Les *colorations combinées* peuvent être pratiquées en faisant agir plusieurs colorants successivement ou simultanément.

7° *Colorations panoptiques*. — Dans les colorations combinées on ne fait agir que des *colorants basiques* ou *acides*, les colorants panoptiques sont au contraire des *colorants neutres*. On veut ici mettre en évidence le plus grand nombre d'éléments avec des tons et des couleurs différents. Ces procédés sont très employés aujourd'hui et en particulier pour l'étude du sang et des Protozoaires. Comme exemple de ces colorations panoptiques nous ne pouvons mieux faire que de citer la méthode de ROMANOVSKY, modifiée par GIEMSA et PAPPENHEIM dans laquelle la coloration est produite par l'éosinate d'azur de méthylène et par l'éosinate de bleu de méthylène (LANGERON).

8° *Colorations en masse*. — Très employées autrefois, ces colorations ne le sont plus guère aujourd'hui. Elles s'appliquent de préférence aux coupes.

Pratiquement elles ne sont possibles qu'avec le carmin et l'hématéine.

On ne peut se servir de couleurs d'aniline à cause de leur faible pouvoir de pénétrabilité.

**Mordantage**. — Les mordants sont des corps qui servent d'intermédiaires entre le corps à colorer et le colorant.

« Les teintures à l'hématoxyline nous fournissent de bons exemples de ces deux modes d'application du mordantage. Dans la coloration à l'hématoxyline ferrique qui est à la fois indirecte et régressive, on fait agir d'abord le mordant, qui est l'alun de fer; puis le colorant, qui est l'hématoxyline, et enfin on différencie de nouveau avec le mordant. L'hématéine de MAYER, au contraire, est une laque aluminique d'hématoxyline qui donne une coloration indirecte et progressive. » (LANGERON.)

**PRINCIPAUX MORDANTS.** — En général, les colorants acides sont mordancés par les sels métalliques, tandis que les couleurs basiques sont sensibles dans la plupart des cas à des composés organiques, tels que le tannin, mais ceci n'est pas une règle générale, et mieux vaut passer en revue les principaux mordants employés en technique bactériologique :

1° Les aluns sont de bons mordants pour les noyaux et les colorants acides (hématoxyline) : on emploie de préférence l'alun de potasse (sulfate double d'alumine et de potasse) et l'alun de fer (sulfate double d'ammonium et de sesquioxyde de fer);

2° Le tannin est employé seul ou associé au sel de fer. C'est un excellent mordant pour les colorants basiques d'aniline, avec lesquels il forme des laques insolubles. On l'emploie pour la coloration des cils chez les bactéries;

3° L'iode, employé le plus souvent sous forme de *liquide de Lugol* (solution d'iode iodurée), est un bon mordant pour certaines couleurs. D'ailleurs, l'action mordancante de l'iode pour certaines couleurs est la base de la *méthode de Gram* (Voir p. 103);

4° *Mordants chromiques.* — LANGERON désigne sous ce nom les Chrombeize GAI et GAIL de Höchst introduits par RAWITZ surtout dans la technique histologique. Nous ne les citons que pour mémoire.

**ACCENTUATEURS.** — Les accentuateurs sont des corps qui favorisent les colorations. Le rôle des accentuateurs, bien que différent de celui des mordants, nous est inconnu.

En bactériologie on emploie deux sortes d'accentuateurs, les basiques et les acides.

1° *Accentuateurs basiques.* — Parmi ceux-ci nous citerons la potasse caustique à 1 ‰ (Voir bleu de Löffler, p. 97).

Dans certaines solutions colorantes on la remplace par le carbonate de potasse (Voir solution d'azur II de Giemsa).



Le *borate de soude* est employé dans le bleu boracique de Manson et de Sahli (page 97).

L'*aniline* est également en usage. Avec l'eau d'aniline on prépare la safranine anilinée, le violet de gentiane aniliné, colorants très employés en bactériologie.

Le *formol* est employé dans la méthode de Biot pour la coloration des bactéries.

*Accentuateurs acides.* — Nous citerons seulement l'*acide acétique* employé pour la préparation du vert acétique et la coloration des capsules des bactéries par la méthode de FRIEDLANDER, et l'*acide phénique* qui joue un rôle considérable dans la préparation des colorants bactériologiques.

## COLORANTS

Les véritables colorants des bactéries sont des couleurs d'aniline. On les classe en *couleurs basiques* (1) et *couleurs acides*. Les colorants basiques, ou couleurs dans lesquelles le corps colorant joue le rôle de base combinée avec un acide incolore, possèdent d'une façon générale une tendance à se localiser directement dans les noyaux, tandis que les colorants acides, dans lesquels le corps colorant proprement dit joue le rôle d'un acide dans la combinaison, colorent d'une manière plutôt diffuse ou se localisent principalement dans le cytoplasme et les substances intercellulaires.

On range dans les couleurs basiques : la fuchsine, l'auramine, la chrysoïdine, la vésuvine (brun de Bismarck), le vert brillant, le vert malachite, le violet de méthyle, le violet dahlia, le bleu Victoria, la safranine, le bleu de méthylène, le vert de méthyle, le violet de gentiane, la thionine.

Dans les couleurs acides : la fuchsine S, le violet S, les éosines, les fluorescéines, l'orange G, le vert lumière FS, l'acide picrique, le picrate d'ammoniaque, l'induline (nigrosine). C'est à ces matières colorantes que l'on fait appel pour la plupart des colorations quotidiennes courantes.

**Violet** : Le violet de gentiane, le violet dahlia, la thionine, le

---

(1) Les colorants d'aniline basiques sont surtout des colorants nucléaires. Les colorations qu'ils peuvent donner sont directes sans mordantage préalable; il vaut mieux employer des accentuateurs (formol ou acide phénique).

violet de méthyle 5 B et 6 B, l'hexaméthylviolet, le krystallviolet sont tous de bons colorants. Ils possèdent un avantage sur la fuchsine, celui d'être fixés par l'iode sur certains microbes au point de permettre une décoloration ultérieure d'autres éléments par des agents d'extraction énergiques.

**Rouges :** La fuchsine donne des colorations très vives et tenaces. On connaît plusieurs fuchsines basiques, on les distingue sous le nom de *fuchsine*, *rubine*, *Magenta*, *Anilinroth*, *roséine*, selon les industriels. Elles sont toutes également utilisables. Il ne faut pas confondre ces matières colorantes avec les fuchsines acides : *fuchsine S*, *Säurefuchsin*, *rubine S*, *Acid Magenta*.

Le rouge neutre ou chlorhydrate de diméthyl-diamido-toluphénazine a peu d'affinité pour les microbes vivants, plus pour les microbes morts. Il est employé en solution aqueuse.

Comme autres colorants rouges répondant à des besoins spéciaux il faut citer les éosines solubles dans l'eau, le rouge Congo, un des mieux tolérés par la cellule vivante ; l'*érythrosine*, la phénosafranine et la safranine S O (colorants nucléaires).

**Bleus :** Un des bleus les plus employés est le *bleu de méthylène* (1). Il a cependant un grand inconvénient : il se décolore assez rapidement. De plus la coloration n'est pas très marquée. Pour les études fines de morphologie c'est, avec le *vert de méthyle*, le réactif capable de rendre les services les plus signalés, surtout si on a soin de le choisir pur (2).

Le *bleu C<sup>1</sup> B. Poirrier* spécialement employé pour la coloration des champignons filamenteux, voir page 101.

Le *bleu Victoria*, colorant basique, peut être associé avantageusement avec la fuchsine S.

Le *bleu de toluidine* donne d'excellentes préparations lorsqu'il est employé en solution aqueuse. Nous le préférons au bleu de méthylène.

Le *bleu d'azur*, ou *azur de méthylène*, a été préconisé en solu-

---

1 Le bleu de méthylène est le chlorhydrate de tétraméthylthionine. Souvent il renferme de l'azur de méthylène et du chlorure de zinc. Pour les colorations vitales, utiliser le bleu de méthylène exempt de chlorure de zinc.

2 Ne pas confondre le bleu de méthylène avec le bleu de méthyle qui, lui, est un colorant acide, différant par sa constitution chimique et aussi par ses propriétés.

tion dans l'alcool méthylique. Ces colorants sont très précieux pour l'étude des Bactéries et aussi des Protozoaires. On l'emploie de préférence en double coloration avec l'éosine.

*Bleu polychrome de Unna.* — Ce colorant est préparé en faisant agir du carbonate de potassium sur le bleu de méthylène en solution aqueuse à la température de l'ébullition. C'est un réactif qu'il est bon de se procurer tout fait.

REMARQUES IMPORTANTES AU SUJET DES COLORANTS. — Les colorants utilisés en mycologie ne sont pas des corps simples, mais des corps complexes, et bien souvent l'industrie ne les livre que mélangés à des substances étrangères. Aussi le pouvoir tinctorial des colorants est-il variable (1).

D'autre part, lors de la préparation des solutions la solubilité des matières colorantes est plus ou moins complète et si on n'opère pas avec beaucoup de soin (ce qui demande du temps) il reste toujours une certaine partie insoluble.

Il en résulte que le titre des solutions effectuées avec un même échantillon de colorant est variable si l'on ne s'astreint pas à une dissolution complète.

Mais il y a plus encore : le pouvoir tinctorial des différentes solutions varie en général avec l'âge. Il diminue très nettement avec le bleu de méthylène par exemple, alors qu'il augmente avec certains autres colorants (colorants phéniqués). Il y a donc avantage à employer des colorants phéniqués préparés déjà depuis un certain temps (violet de gentiane, bleu de toluidine, solution de Ziehl, etc.).

Pour le Ziehl surtout il est intéressant d'avoir des solutions âgées de quelques mois. On évite ainsi les précipitations, si ennuyeuses lorsqu'on opère à chaud.

---

1) Pour parer à cette éventualité, les naturalistes, histologistes, bactériologistes etc. avaient décidé de n'utiliser que des colorants de même origine, afin d'obtenir des résultats toujours identiques et comparables. Spéculant sur cette idée, une maison allemande inondait le marché de ses produits colorants. Or, l'un de nous, étudiant l'analyse capillaire, désira obtenir de ladite maison certains renseignements techniques. Il acquit la conviction que ce fournisseur était incapable de garantir l'origine et la composition des produits vendus, pour la bonne raison qu'il les ignorait lui-même. On aurait donc tort de se fier aveuglément aux marques étrangères.

Il résulte de ce que nous venons d'exposer que les différents échantillons de colorants ont le plus souvent un pouvoir tinctorial différent.

On peut vieillir artificiellement les bains colorants par certains agents physiques, la chaleur par exemple. Pour obtenir des colorants de vieillissement différent il suffit de chauffer les bains : soit à une température différente, soit durant un laps de temps différent. On peut chauffer de 45° à 51° ou 60°. Pour le Ziehl nous nous trouvons bien d'un chauffage à 56° durant quatre jours.

Les temps de contact indiqués entre préparation et colorant ne sont donc valables que pour un bain donné. Ils ne peuvent servir que d'indications et ces temps varieront souvent dans une large mesure avec un bain de même formule mais effectué par un autre opérateur.

### Résumé des colorants employés en mycologie.

#### COULEURS BASIQUES

Violetes . . . . .	{	Krystall violet.
		Violet de Lauth (thionine).
		— de gentiane B.
		— de méthyle B (Violet de Bâle).
		— de méthyle 6 B.
		— de Paris.
		— dahlia.
Bleus . . . . .	{	Bleu de méthylène.
		Bleu C <sup>4</sup> B Poirrier.
		— de Victoria.
		— de quinoléine.
		— polychromatique de Unna.
Rouges . . . . .	{	Fuchsine.
		Rubine.
		Safranine.
		Neutral-roth.
		Sudan III.
Verts . . . . .	{	Vert de méthyle.
		— malachite.
Bruns. . . . .		Brun de Bismarck. — Vésuvine.
Noirs . . . . .		Noir Colin. — Induline.

#### COULEURS ACIDES

Fluorescéine (éther phtalique de la résorcine).  
 Éosine fluorescéine tétrabromée.  
 L'aurantia, la coccinine, la fuchsine acide, l'orange g, le picrocarmin sont les plus employés.

### Solutions simples.

On fait peu usage de ces solutions en mycologie, on donne la préférence aux solutions mordancées. Néanmoins nous indiquerons ici leur mode de préparation (1).

#### I. Solutions alcooliques.

Matière colorante. . . . .	1 gr.
Alcool absolu . . . . .	10 cm <sup>3</sup>

On projette la matière colorante dans l'alcool contenu dans un flacon bouché à l'émeri, on agite, on laisse en contact et *on a soin de filtrer* avant de s'en servir.

Ces solutions servent à la préparation des solutions hydroalcooliques. Il faut les conserver à l'abri de la lumière. On peut ainsi préparer les solutions alcooliques de fuchisine, krystall violet ou violet de gentiane et bleu de méthylène.

#### II. — Solutions hydroalcooliques.

Solution alcoolique filtrée . . . . .	1 à 5 cm <sup>3</sup>
Eau distillée . . . . .	100

Mélanger, laisser en contact et filtrer au moment du besoin. Milieux vaut préparer ces solutions extemporanément.

#### III. — Solutions aqueuses.

Matière colorante . . . . .	0 gr. <sup>25</sup>
Eau distillée. . . . .	25 cm <sup>3</sup>

Mêler dans un petit flacon, agiter, laisser en contact et filtrer. Il doit rester un excès de matière colorante au fond du flacon.

Difficiles à conserver, ces solutions doivent être préparées au moment du besoin. Elles sont peu utilisées. Cependant on utilise

---

1, L'eau distillée ordinaire des laboratoires est toujours impure. Si ces impuretés n'ont aucune importance dans la pratique journalière, il n'en est plus de même pour les recherches précises en ce cas nous préconisons l'eau distillée avec précaution offrant une conductibilité électrique :

$$K = \leq 1.10^{-6} \text{ à } 25^{\circ} \text{ C.}$$

le bleu de quinoléine, la vésuvine, le vert de méthyle, le neutral-roth pour des colorations vitales.

### Solutions mordancées (2).

De beaucoup les plus employées. Elles sont d'une bonne conservation.

### I. — Solutions phéniquées (1).

#### Fuchsine phéniquée de Ziehl.

Fuchsine . . . . .	1 gr.
Acide phénique neigeux . . . . .	5
Alcool absolu . . . . .	10 cm <sup>3</sup>
Eau distillée . . . . .	100

Placer la fuchsine dans un petit mortier de verre, triturer avec l'alcool absolu; ajouter l'acide phénique; mélanger. Ajouter par petites portions, en remuant constamment, les deux tiers de l'eau; placer le liquide ainsi obtenu dans un flacon, rincer le mortier avec le reste de l'eau; réunir les liquides. Laisser en contact vingt-quatre heures; filtrer dans un flacon propre bouché à l'émeri.

#### Fuchsine de Ziehl diluée.

On se sert parfois d'une fuchsine atténuée ainsi préparée :

Fuchsine de Ziehl . . . . .	1 cm <sup>3</sup>
Eau distillée . . . . .	6 à 10

Doit être préparée au moment du besoin. Filtrer.

#### Krystal violet phéniqué (Roux).

Krystall violet . . . . .	1 gr.
Acide phénique neigeux . . . . .	2
Alcool absolu . . . . .	10 cm <sup>3</sup>
Eau distillée . . . . .	100

### (1) Formule générale des solutions colorantes phéniquées.

Matière colorante . . . . .	1 à 2 gr.
Acide phénique . . . . .	2 à 5 gr.
Alcool . . . . .	10 gr.
Eau . . . . .	100



Même préparation que pour la fuchsine de Ziehl; elle est employée pour effectuer la méthode de coloration de Gram.

#### Violet de gentiane phéniqué (Nicolle).

Remplacer le krystall violet dans la formule précédente par le violet de gentiane.

#### Thionine phéniquée (Nicolle).

Thionine . . . . .	0 gr. 50 à	1 gr.
Acide phénique neigeux . . . . .		1
Alcool à 90° . . . . .		10 cm <sup>3</sup>
Eau distillée . . . . .		100

Préparer comme la solution de Ziehl.  
Colorant excellent pour frottis.

#### Bleu de méthylène phéniqué (Kuhn).

Bleu de méthylène. . . . .	1 gr. 50 à	2 gr.
Acide phénique neigeux . . . . .		2
Alcool absolu . . . . .		10 cm <sup>3</sup>
Eau distillée . . . . .		100

Même préparation que pour la thionine phéniquée.

#### Bleu polychromatique de Unna.

Solution de bleu polychrome de Unna . . . . .	20 cm <sup>3</sup>
Acide phénique neigeux . . . . .	1 gr.
Alcool à 90° . . . . .	10 cm <sup>3</sup>
Eau distillée . . . . .	q. s. p. 100

Dissoudre l'acide phénique dans l'alcool, ajouter l'eau distillée pour faire 80 centimètres cubes avec le bleu polychrome.

#### Solutions anilénées (1).

Préparer toujours ces colorants au moment du besoin. Nous leur préférons les solutions phéniquées.

Il est nécessaire d'avoir toujours à sa disposition de l'eau d'aniline qui se prépare ainsi :

Huile d'aniline . . . . .	5 cm <sup>3</sup>
Eau distillée. . . . .	100

Mélanger dans un flacon fermé. Agiter vigoureusement et laisser en contact. Au moment de l'emploi, filtrer sur un papier préalablement mouillé. Il ne doit jamais passer de gouttelettes d'aniline au travers du papier filtre. Si ce fait se produit, filtrer à nouveau.

### Violet aniliné.

Filtrer au-dessus d'un godet en porcelaine 10 centimètres cubes d'eau d'aniline. Au filtrat ajouter quelques gouttes de solution alcoolique filtrée de violet de gentiane, jusqu'à obtention d'une pellicule irisée. A employer immédiatement. La solution doit être renouvelée chaque jour. On prépare ainsi la fuchsine, le krySTALL violet, le bleu de méthylène aniliné.

## II. — Solutions alcalines.

Nous ne citerons que les plus employées.

### Bleu alcalin de Löffler

Solution alcoolique de bleu de méthylène. . .	30 cm <sup>3</sup>
Solution de potasse caustique à 1 p. 10.000. . .	100

### Bleu alcalin de Kühne.

Solution alcoolique de bleu de méthylène. . .	30 cm <sup>3</sup>
Solution de carbonate d'ammoniaque à 1 p. 100 . . .	100

Mélanger, filtrer, au moment du besoin. Meilleure conservation que le précédent.

### Bleu de Sahli.

Eau distillée . . . . .	40 parties
Solution aqueuse saturée de bleu de méthylène . . . . .	24 parties
Solution de borax à 5 p. 100 . . . . .	15 parties

Filtrer après repos de 24 heures.

1 L'huile d'aniline n'agissant que par C6H5OH, il est beaucoup plus simple d'utiliser l'acide phénique. Nous remplaçons toujours avec avantage l'huile d'aniline par l'acide phénique.

### III. — Solutions bichlorurées.

#### Violet de Nastikow.

Solution aqueuse de $\text{HgCl}_2$ à 1 p. 2.000 . . .	10 cm <sup>3</sup>
Solution alcoolique de violet de gentiane. . .	1

Mêler, filtrer (mauvaise conservation).

### IV. — Couleurs composées.

#### Bleu de Roux.

SOLUTION A.		SOLUTION B.	
Violet dahlia . . . .	1 gr.	Vert de méthyle. . . .	2 gr.
Alcool absolu. . . .	10	Alcool absolu. . . .	20
Eau distillée q. s. p.	100	Eau distillée q. s. p.	200

1° On prépare simultanément chacune de ces deux solutions; triturer dans un mortier la matière colorante et l'alcool, ajouter l'eau peu à peu, laisser 24 heures en contact dans un flacon;

2° Mélanger les deux liquides; filtrer. Conserver en flacon hermétiquement clos.

#### Bleu de Koch.

Solution alcoolique concentrée de bleu de méthylène . . . . .	1 cm <sup>3</sup>
Eau distillée . . . . .	2
Potasse caustique à 10 p. 100 . . . . .	0 2

S'altère rapidement.

#### Encre de fuchsine.

Solution aqueuse de tanin à 20 p. 80 . . . . .	10 cm <sup>3</sup>
Solution aqueuse saturée à froid de sulfate de fer . . . . .	5
Alcool absolu saturé de fuchsine . . . . .	1

Mêler, ne pas filtrer. Doit être employée fraîche.

### V. — Solutions colorantes diverses.

#### Hémalun de Mayer.

On dissout en chauffant 1 gramme d'hématéine dans 50 cm<sup>3</sup> d'alcool à 90° et on verse le tout dans une solution de 50 grammes

d'alun dans un litre d'eau distillée. On laisse refroidir et déposer, on filtre s'il y a lieu et on ajoute un cristal de thymol, le liquide a l'avantage de pouvoir s'employer aussitôt sa préparation ; il agit rapidement et peut être utilisé concentré ou dilué.

**Carmin aluné acétique.**

On fait bouillir du carmin en excès dans une solution saturée d'alun de potasse. Après refroidissement, on ajoute 10 % d'acide acétique cristallisable et on laisse le mélange reposer pendant plusieurs jours. Il se fait un dépôt de carmin et d'alun ; on filtre.

**Carmin au borax alcoolique de Grenacher.**

On fait une solution avec :

Carmin. . . . .	3 grammes.
Borax. . . . .	4 grammes.
Eau . . . . .	93 cm <sup>3</sup>

On fait bouillir pendant au moins une demi-heure ; on ajoute 100 cm<sup>3</sup> d'alcool à 70° (1), on agite et on laisse reposer 24 heures.

---

1) Pour obtenir de l'alcool à 70°, ajouter 31 volumes d'eau à 100 volumes d'alcool à 90°.

## CHAPITRE XIII -

### COLORANTS ET COLORATIONS DES CHAMPIGNONS FILAMENTEUX.

---

Un des meilleurs milieux d'observation est certainement le liquide de Pinoy.

Hydrate de chloral. . . . .	40 grammes.
Glycérine. . . . .	20 —
Eau . . . . .	20 —

Solution alcoolique d'acétate de plomb 10 cm<sup>3</sup> Filtrer.

On peut étudier parfaitement la morphologie dans ce liquide.

*Colorants spéciaux pour l'étude mycologique* (champignons inférieurs). Le meilleur colorant est le bleu coton. On l'emploie suivant les cas en dissolution à 1 % dans l'eau ou à 0,50 % dans le lactophénol. LANGERON donne la préférence au lactophénol d'Amann qu'il considère comme très supérieur au bleu lactique.

#### Lactophénol d'Amann.

Acide phénique cristallisé. . . . .	20 grammes.
Acide lactique sirupeux . . . . .	20 —
Glycérine. . . . .	40 —
Eau distillée . . . . .	20 —

GUÉGUEN a montré que le meilleur bleu coton est le bleu C<sup>4</sup>B Poirrier (Société anonyme des matières colorantes de Saint-Denis). Nous le conseillons vivement.

*Bleu lactique.* — Ce réactif, de conservation indéfinie, s'obtient en dissolvant au mortier dans l'acide lactique pur environ un millième de bleu coton C<sup>4</sup>B de Poirrier, et filtrant après vingt-quatre heures. Il est commode de conserver le liquide dans un flacon à pointe plongeante, qui permet de n'en prendre qu'une goutte à la fois.

On doit examiner la coupe directement dans le réactif : soit à froid (coloration obtenue en quelques minutes), soit après avoir chauffé légèrement (coloration instantanée). Le bleu lactique est d'un emploi absolument général, il peut servir à examiner tous les champignons (frais, secs ou conservés dans l'alcool) et beaucoup d'autres objets de nature végétale ou même animale.

### COLORANT TRIPLE DE GUÉGUEN

Depuis quelques années, on se sert en histologie, comme réactif des graisses, du sudan III ou « cerasinroth », obtenu par l'action de l'amidoazobenzol sur le naphthol  $\beta$ . Ce composé, qui a l'aspect d'une poudre brune insoluble dans l'eau, a d'abord été employé sous forme de solution alcoolique par DADDI (*Arch. ital. de Biol.*, 1896) et par d'autres auteurs. L'action dissolvante de l'alcool pouvant s'exercer sur certains corps que l'on désire localiser par le sudan (essences, résines), GUIGNARD (*Journal de Bot.*, 1904) a remplacé ce véhicule par une solution aqueuse d'hydrate de chloral à parties égales. Le sudan-chloral au millième, préparé à chaud, est d'un excellent emploi, mais ne saurait, non plus que le sudan à l'alcool et pour des raisons analogues, être utilisé dans tous les cas.

Pour colorer les globules gras des Champignons, Guéguen a obtenu de bons résultats d'une solution de sudan dans l'acide lactique, réactif éclaircissant universellement employé par les mycologues et les lichénographes. Voici comment il convient de préparer ce *sudan lactique* :

Le colorant, préalablement réduit en poudre fine, est broyé au mortier avec mille fois son poids d'acide lactique pur, ajouté peu à peu. Le mélange, versé dans un petit matras, est chauffé doucement jusqu'à dissolution complète et obtention d'un liquide limpide rouge cerise, que l'on filtre *après complet refroidissement* et que l'on conserve en flacon bouché. Il est bon, pour éviter tout trouble ultérieur, de n'opérer la filtration qu'au bout



de deux ou trois jours, et de conserver le réactif à l'abri de la lumière, qui semble l'altérer.

Malgré la faible proportion de colorant dissous, le sudan lactique donne des localisations très suffisamment nettes; aussi n'y a-t-il aucun avantage réel à faire intervenir l'alcool dans la préparation, comme je m'en suis assuré.

Le réactif ainsi obtenu peut être mélangé en toutes proportions au *bleu lactique* (solution de bleu coton C<sup>+</sup>B dans l'acide lactique) et à l'*iode lactique*, qu'on prépare en ajoutant à de l'acide lactique des proportions variables (1 à 2 millièmes) de teinture d'iode.

Pour ne pas trop affaiblir le titre de la solution de sudan, il est préférable de s'en servir comme de véhicule pour les autres réactifs employés purs. En dissolvant à froid au mortier, dans le sudan lactique, un millième de son poids de bleu C<sup>+</sup>B Poirrier, et ajoutant au mélange, préalablement filtré, une ou deux gouttes de teinture d'iode par 10 centimètres cubes, on obtient un liquide violet foncé, colorant triple qui peut servir à localiser simultanément les corps gras, les matières amylacées et certaines inclusions protoplasmiques. L'électivité est aussi parfaite que si chacune des substances dissoutes était employée seule. C'est ainsi que dans l'arachide on colore à la fois les globules gras et l'amidon, et que dans une culture d'une Mucédinée sur pomme de terre, on voit se détacher en rouge vif, sur le fond bleu du protoplasme, les moindres gouttelettes oléagineuses contenues dans les hyphes et dans les conidies. Le substratum prend en même temps une couleur brune ou violette, suivant qu'il est ou non attaqué par les ferments de la Mucédinée. La matière amyloïde contenue dans les membranes de certains Champignons est également décelée par ce réactif avec une grande netteté.

Pour colorer un champignon filamenteux par le bleu lactique, ou le colorant triple, il suffit après fixation de faire tomber sur la lame portant le champignon une ou deux gouttes du colorant, chauffer jusqu'à émission de vapeurs, recouvrir d'une lamelle et examiner au microscope.

*Colorations cytologiques* : Voir à la fin de l'ouvrage (Méthodes employées par Guilliermond qui sont des méthodes de choix.

*Observations.* — Il est bien entendu qu'il est possible de colorer les champignons par les couleurs d'aniline, etc.

La coloration peut être obtenue avec les solutions très étendues de fuchsine de Ziehl, de thionine phéniquée, de bleu de méthylène, de violet de gentiane, de safranine ou d'éosine.

### Méthode de Gram.

Les couleurs dérivées de la pararosaniline (violet de gentiane, violets penta et hexaméthylés, bleu Victoria) forment avec l'iode une combinaison non dissociable par le traitement à l'alcool.

Certains champignons ont pour cette combinaison une affinité telle que l'alcool ne peut l'entraîner et dans ce cas on dit que ces éléments microscopiques prennent le Gram.

D'autres, au contraire, ne possèdent pas cette affinité, on dit alors qu'ils ne prennent pas le Gram et abandonnent à l'alcool la combinaison iodopararosaniline. Celle-ci n'est qu'entraînée mais pas dissociée.

Cette réaction ne se produit pas avec les couleurs dérivées de la rosaniline (fuchsine, magenta, diamantfuchsine, solfé-rino, etc.).

TECHNIQUE DE LA MÉTHODE DE GRAM. — 1<sup>o</sup> Colorer par le violet phéniqué ou aniliné (violet de gentiane).

2<sup>o</sup> Laver rapidement pour enlever l'excès de matière colorante (1);

3<sup>o</sup> Mordancer par le liquide de Lugol :

Iodure de potassium. . . . .	2 gr.
Iode. . . . .	1 gr.
Eau distillée. . . . .	200 cm <sup>3</sup>

Le contact de ce liquide avec la préparation doit durer trente secondes ou une minute. Le frottis doit prendre une teinte *brun noir*;

4<sup>o</sup> Laver ensuite à l'eau;

5<sup>o</sup> Différencier par l'alcool absolu ou par l'alcool-acétone :

Alcool absolu. . . . .	5 gr.
Acétone . . . . .	1 (Nicolle).

6<sup>o</sup> Laver à l'eau et colorer le fond en traitant la préparation par une forte goutte de solution d'éosine :

(1) Certains auteurs recommandent de ne pas laver : un lavage très rapide ne peut nuire.

---

Eosine soluble à l'eau. . . . .	1 gr.
Eau distillée . . . . .	200 cm <sup>3</sup>

Laisser en contact pendant une à deux minutes;

7° Laver à l'eau distillée. Passer rapidement par l'alcool absolu et le xylol et monter au baume.

Ce qui est important ici c'est d'apporter tout le soin *possible à la différenciation*. Si on prolonge trop cette opération la décoloration pourra être complète sans respecter aucun élément; si on l'écourte, on ne pourra obtenir la différenciation cherchée.

### Technique de MOREL et ANGLADE.

Lorsque le champignon est inclus dans les produits de suppuration on procède par frottis. Si l'on veut l'étudier dans ses rapports avec les tissus parasites, c'est aux coupes qu'il faut recourir.

Pour les champignons parasites de l'homme *E. Bodin* recommande le même procédé que *Morel et Anglade* emploient pour la coloration de la névroglie.

1° Coloration de 24 heures dans une solution alcoolique saturée de bleu Victoria étendue de moitié d'eau.

2° Lavage prolongé à l'eau.

3° Action de la solution iodo-iodurée de Lugol pendant 5 minutes suivie d'un lavage à l'eau.

4° Séchage au papier buvard.

5° Décoloration par le mélange : Xylol 1 gramme ; huile d'aniline 2 grammes.

6° Laver au xylol pur, monter au baume cette méthode donne de très bons résultats pour la coloration des filaments cryptogamiques. Pour les spores et la partie protoplasmique du champignon la solution de Kernschwartz donne en 24 heures de très fines colorations (*E. Bodin*).

*Observations* : Pour tous les procédés spéciaux nous renvoyons le lecteur aux méthodes et techniques spéciales décrites pour chaque genre ou chaque espèce de champignons.

## CHAPITRE XIV

### INOCULATION AUX ANIMAUX DE LABORATOIRE

#### MÉTHODES ET TECHNIQUE A EMPLOYER SUIVANT L'ESPÈCE DE CHAMPIGNON

---

Dans la pratique journalière, le pharmacien peut avoir à effectuer certaines inoculations pour confirmer ses recherches morphologiques et biologiques.

Que faut-il pour pratiquer cette opération ?

- a) Le pus, la substance ou la culture qu'il désire inoculer.
- b) Une seringue en verre et une aiguille, en platine de préférence, très soigneusement boullie ou autoclavée.
- c) Une pipette ou un verre de montre, un tube de bouillon, un bec Bunsen.
- d) Un cobaye, une souris, un lapin, etc., en un mot l'animal ou les animaux que l'on désire inoculer.

#### MANIÈRE DE FAIRE L'INJECTION A UN COBAYE, UNE SOURIS OU UN LAPIN

(1) *Observations* : Avant toute opération, le poil est rasé et la place lavée au sublimé, puis à l'alcool-éther; de même dès que l'aiguille est retirée, on cautérise au fer rouge l'endroit de la piqûre, ce qui assure l'asepsie et arrête toute hémorragie.

1° Prélever au moyen d'une pipette flambée quelques gouttes de pus (si c'est un pus), les verser dans un verre de montre

recouvert par un autre, tous deux préalablement flambés. Ou bien prélever le pus dans un tout petit tube à essais préalablement stérilisé et le diluer avec une partie équivalente de bouillon si ce sont des spores que l'on désire, inoculer, pratiquer une émulsion de spores de la façon suivante : Onensemence la mucédinée dans des fioles de Gayon (diamètre du fond = 15 centimètres contenant du liquide neutre de Raulin gélifié. Quand les cultures ont atteint leur maximum de croissance (5 à 7 jours après l'ensemencement) on verse dans le flacon 10 à 20 cm<sup>3</sup> de sérum physiologique (chlorure de sodium 7 gr. 5 par litre et on agite vigoureusement. Pour se débarrasser des filaments mycéliens on filtre la solution sur un entonnoir stérilisé dont la douille est garnie d'un tampon de coton peu serré. On recueille dans un petit verre conique fermé par un diaphragme de papier buvard que l'on perce.

Avant d'inoculer l'émulsion de spores compter le nombre de spores contenues dans chaque centimètre cube au moyen d'un compte-globules. Pratiquer cette numération comme on compte les globules du sang.

2° Remplir la seringue montée.

3° Effectuer l'injection.

a) *A la souris.* — Chez la souris et le rat, les injections se font ordinairement à la base de la queue. On injecte donc dans cette région ou sous la peau de la région dorsale quelques gouttes du liquide à inoculer. La souris est maintenue dans une compresse de toile. Faire très attention aux morsures.

b) *Au cobaye.* — On fera l'injection sous-cutanée en ayant soin tout d'abord de raser les poils de la région d'inoculation; on savonne cette partie rasée et on la passe ensuite, après lavage, à l'alcool à 90° et à l'éther.

L'animal sera maintenu à deux mains par un aide qui tire sur les membres inférieurs et sur la tête. La pipûre est faite dans un pli de la région inguinale. On injecte généralement 4 à 5 centimètres cubes dans la région sous-cutanée.

L'injection intrapéritonéale est réservée aux sérosités pleurale et ascitique contenant peu d'éléments pathogènes.

*Injection intrapéritonéale.* — Il est inutile d'inciser la peau. Pour éviter de blesser l'intestin, on peut se servir d'une double

canule. On traverse la peau (rasée et désinfectée), puis les plans profonds au moyen d'une canule piquante et courte.

Par la lumière de cette canule on fera passer ensuite dans la cavité abdominale une autre canule mousse, un peu plus longue, par laquelle se pratiquera l'injection.

Avec un peu d'habitude, on fait directement l'injection dans le péritoine en traversant perpendiculairement les parties molles. Lorsqu'on sent que l'aiguille a pénétré dans la séreuse, on la glisse le long du péritoine pariétal et on injecte.

Même remarque pour les lapins.

On met ensuite l'animal en cage isolée et très propre, désinfectée avec grand soin, etc.

On le pèse avant l'expérience, et on établit un protocole d'expériences en notant chaque jour les phénomènes qui se produisent.

#### Autopsie de l'animal.

Lorsque l'inoculation amène la mort de l'animal, on doit immédiatement (au plus tard quelques heures après le décès) pratiquer l'autopsie. Pour cette dernière on se sert de ciseaux, scalpels et pinces stérilisés et l'on opère de manière à éviter toute contamination extérieure. Une parcelle de chacun des organes prélevés dans ces conditions est projetée dans des matras contenant du Raulin normal stérilisé; l'un de ces matras reçoit une goutte de sang puisé directement dans le cœur à l'aide de la pipette protégée de GUEGUEN. Si la mort est due à l'action de la mucédinée et non à une faute opératoire, les cultures sont positives; le sang a disséminé les conidies dans tout l'organisme, mais lui-même reste souvent stérile. Pour fortifier le diagnostic ayons recours à la sporo-agglutination et à la fixation du complément.

#### Examen histologique.

L'examen histologique fournira la preuve certaine du rôle pathogénique de la maladie. Des tranches d'organe de 1 centimètre de long, 1/2 centimètre de large sur 2 à 5 millimètres d'épaisseur sont fixées au moment même de l'autopsie par le sublimé acétique ou l'alcool à 95°. Durcir ensuite aux alcools de plus en plus concentrés, puis inclure dans la paraffine. Le bloc de



# **DÉGRÉ DE RÉCEPTIVITÉ DES ANIMAUX AUX DIFFÉRENTS CHAMPIGNONS PATHOGÈNES**

CHAMPIGNONS	ANIMAUX DE CHOIX	ANIMAUX + OU — RÉCEPTIFS	ANIMAUX RÉFRACIAIRES	OBSERVATIONS
Mucor pusillus LINDT.	Lapin	Cobaye, Souris.	Chien.	
Mucor Regnieri.	Lapin.	"	"	Les expériences sur les différents animaux n'ont pas été effectuées.
Rhizomucor parasiticus. Cost et LUCKT.	Lapin, Cobaye et Poule en injection intraveineuse et intrapéritonéale.	"	Chien.	
Rhizopus Cohni. BERLESE et DE TONI	Pathogène pour le Lapin en injections intraveineuse.	Cobaye, Rat, Souris.	"	"
Rhizopus équinus, Cost. et Lucet.	Lapin.	"	Poule.	"
Saccharomyces tumefaciens. Busse 1897.	Rat, Souris, Chien.	"	"	"

Saccharomyces granulatus, VUILLEMIN et LEGRAIN.	Cobaye.	Lapin.	"	"
Cryptococcus Rogerii, SARTORY, DEMANCHÉ.	Lapin, Cobaye.	Poule.	Chien, Rat.	"
Endomyces albicans, VUILLEMIN	Lapin (dans les veines).	Cobaye, Chien.	"	"
Aspergillus fumigatus, FRES.	Pigeon, Lapin, Singe (dans les veines).	Cobaye, Chien.	"	"
Aspergillus fumigatus des. SARTORY, BAI-NIER.	Cobaye, Lapin, dans les veines.	"	Chien.	"
Sterigmatocystis nidulans, EIDAM.	"	"	"	"
Sporotrichum.	Rat.	"	"	"
Acremonium Potroni, VUILLEMIN.	Cobaye.	"	"	"
Oospora, Actinomyces, Nocardia, Discomyces	Cobaye et Lapin, dans le péritoine.	"	"	Très difficile à réaliser.

paraffine obtenu est débité en coupes minces que l'on colle sur lame par l'albumine de Mayer ou la gélatine bichromatée.

Pour colorer les coupes après leur passage dans le picro-carmin de ORTH, LUCET les plonge pendant quelques heures dans une solution aqueuse de violet de méthyle ou de violet de gentiane et en suivant la méthode de Gram-Weigert il obtient une coloration intense du mycélium ; RENON les laisse une minute à peine dans une solution de thionine phéniquée ; BARTHELAT les met pendant 4 à 5 minutes dans une solution aqueuse à 2 p. 100 de bleu de toluidine (le rouge de ruthénium est recommandé par l'auteur). Nous employons avec succès ces colorants mais au lieu de la coloration primitive en masse par le picro-carmin, nous faisons agir doucement sur la lame une solution d'hématoxyline, puis pendant quelques minutes un mélange de 3 grammes d'alcool absolu et 1 gramme de solution aqueuse d'éosine à 0,5 p. 100. Sur un fond rosé se détachent les noyaux violets des cellules et les filaments mycéliens apparaissent également en violet plus ou moins foncé (violet de gentiane, thionine, bleu de toluidine). On passe ensuite par les alcools forts et l'on monte finalement dans le baume.

## DEUXIÈME PARTIE

### CHAPITRE XV

#### DESCRIPTION DES PRINCIPAUX CHAMPIGNONS PARASITES DE L'HOMME ET DES ANIMAUX.

##### ORDRE DES OOMYCÈTES.

Champignon à thalle, filamenteux, souvent très réduit, normalement dépourvu de cloisons, et formant par conjugaisons des œufs ou zygosporos.

##### Classification de Van Tieghem.

Conjugaison isogame	Des zoospores (spores mobiles à l'aide de cils). . . . .	Zoospores se fu- sionnant . . . . .	<i>Vampyrellacées.</i>
		Zoospores ne se fu- sionnant pas. . . . .	<i>Chytridiacées.</i>
	Des spores endogènes (produites à l'intérieur d'un sporange. . . . .)		<i>Mucorinées.</i>
	Des spores exogènes (ou conidies solitaires produits au sommet d'un conidiophore. . . . .)		<i>Entomophthoracées.</i>
Conjugaison heterogame	Des zoospores . . . . .		<i>Saprolegniacées.</i>
	Des antherzoides (corps ciliés émanant des organes males . . . . .)		<i>Monoblepharidées.</i>
	Des spores exogènes ou conidies, solitaires ou en chapelet. . . . .		<i>Peronosporacées</i>

### VAMPYRELLACÉES W. ZOPF.

*Œuf formé par isogamie se fusionnant.* — Ces organismes possèdent comme les Myxomycètes, un thalle plasmodique qui rampe à la surface des êtres vivants et y pénètre en perforant leur membrane. Cela fait, le plasmode s'arrondit, devient plus réfringent, et s'entoure d'une membrane cellulosique lisse ou ornementée. Le sporange s'organise en un certain nombre de zoospores à un ou plusieurs cils. Ces zoospores peuvent ou isolément ou après fusionnement de plusieurs d'entre elles en un nouveau plasmode s'attaquer à un organisme qu'elles envahissent comme il est dit plus haut.

La zoospore peut dans certaines circonstances défavorables s'envelopper d'une membrane résistante et former un kyste à vie ralentie.

#### Classification (d'après ZOPF).

Kystes donnant des amibes pas de zoospores.	{	Plusieurs sporocystes.	<i>Vampyrellées.</i>
		Un seul sporocyste.	<i>Monocystacées.</i>
Kystes donnant des zoospores	{	Spores durables nées dans des sporanges.	<i>Pseudosporées.</i>
		Spores jamais contenues dans des sporanges.	<i>Gymnococcacées.</i>
		Spores non en amas.	
		Spores réunies en amas compacts dans les cellules de l'hôte.	<i>Plasmodiophorées.</i>

#### Vampyrellées.

Genre *Haplococcus* ZOPF 1882. — Les spores ne proviennent pas de sporocystes ; les zoospores sont amœbiformes et s'échappent par rupture des portions amincies de la membrane.

#### *Haplococcus reticulatus* ZOPF.

Trouvé dans les muscles de porcs nourris dans des étables mal tenues.

#### Monocystacées.

Genre *Myxastrum*, E. HÆCKEL 1867. — Plasmode en étoile, pourvu de nombreux tractus rayonnants.

#### *Myxastrum radians* HÆCKEL.

Sur les Diatomées, et les Crustacés inférieurs.

**Gymnococcacées.**

Genre *Protomyxa*, E. HÆCKEL 1867. — Plasmode muni de pseudopodes, réticulé, distinctement granuleux.

**Protomyxa aurantiaca HÆCKEL.**

Trouvé par HÆCKEL aux îles Canaries sur *Spirula Peroni* (Céphalopodes).

**Plasmodiophorées.**

Genre *Plasmodiophora* WORONIN. — Plasmode s'organisant en masses globuleuses qui deviennent des spores émettant des zoospores amœbiformes.

**Plasmodiophora Brassicae W.**

Dans les parenchymes de la racine du chou (hernie du chou).

**CHYTRIDIACÉES**

Les Chytridiacées ont un thalle généralement dépourvu de membrane ; elles se reproduisent au moyen de zoosporanges et donnent naissance à des zoospores possédant un ou deux cils vibratils. Quand la reproduction sexuée existe, elle a lieu soit par isogamie, soit par hétérogamie.

Ces champignons très souvent aquatiques vivent en parasites sur d'autres champignons, sur des algues, sur des infusoires et divers animalcules.

**Chytridiacées.**

Classification suivant VAN TIEGHEM :

Sporanges tout entiers inclus dans le corps de l'hôte,

**Olpidiées.**

Sporanges extérieurs à l'hôte, et n'y plongeant que des suçoirs . . . . . **Chytridiées.**

Deux genres surtout sont à retenir, le genre *Olpidium* et le genre *Chytridium*.

**Genre *Olpidium*, AL. BRAUN, 1855.**

Sporange en forme de matras inclus dans l'hôte, et s'ouvrant au dehors par un col bien net. Pas de rhizoïdes.



*Olpidium gregarium*, ALF. FISCHER. — Trouvé dans des œufs de rotateurs.

*Olpidium macrosporum*, NOWAKOWSKI. — Trouvé dans des œufs de rotateurs. Parasite douteux.

*Olpidium Arcellæ*, SOROKIN. — Trouvé sur un infusoire, *l'Arcella vulgaris*. Parasite douteux.

*Olpidium zootocum*, ALF. FISCHER. — Trouvé dans des Anguillules recoltées sur des crottes de lièvre.

### *Genre Chytridium*, AL. BRAUN, 1855.

Sporange extérieur à l'hôte (sauf Ch. endogenum) dépourvu de rhizoïdes. OEuf formé dans l'intérieur de l'hôte.

*Chytridium endogenum*, AL. BRAUN. — Trouvé dans des Anguillules.

## MUCORINÉES

*Caractères généraux.* — Les Mucorinées ou Mucoracées possèdent un mycélium ramifié, ordinairement continu, rarement cloisonné. A l'extrémité d'un filament dressé du thalle on observe la formation de sporanges globuleux, piriformes ou claviformes, séparés du pied par une cloison qui souvent se bombe vers l'intérieur du sporange pour former la columelle. Le protoplasme du sporange s'organise en un certain nombre de spores arrondies, entourées d'une membrane et mises en liberté par la diffluence partielle ou totale de l'enveloppe commune. Chez quelques espèces, certains rameaux du thalle portent au lieu de sporanges une sphère lisse ou échinulée, à membrane épaissie, appelée *conidie* (petit sporange en miniature) (Mortierellées). Dans certaines conditions, les Mucorinées peuvent donner des œufs (zygospore) qui, en germant, donne naissance à un filament mycélien ou directement à un pédicelle sporangifère. Certaines mucorinées, dont la conjugaison ne s'effectue pas produisent des *azygospores*. On peut les considérer comme des œufs parthénogénétiques.

On appelle *progamète* chez les Mucorinées les deux filaments renflés en massue qui entrent en conjugaison. Le progamète comprend :

1° L'extrémité, dont le contenu entre en conjugaison et constitue le gamète proprement dit.

2° Le reste de la branche, qui prend le nom de *suspenseur*.

Le progamète peut procéder d'hyphes aériennes quelconques, ou d'une branche spéciale distincte du reste des filaments sporangifères. Dans ce cas on distinguera des hyphes non sexuées ou *sporangiphores* et des hyphes sexuées ou *zygospores*.

Les gamètes qui entrent en conjugaison sont tantôt de même grandeur (isogames) tantôt de grandeur différente (hétérogames). Selon de BARY, VAN TIEGHEM, on reconnaîtrait facilement deux sexes, le gamète femelle étant plus gros que le gamète mâle. Ce n'est pas l'opinion de BLAKESLEE.

Pour cet auteur, et il l'a démontré pour plusieurs espèces, la différenciation des sexes chez les Mucorinées va très loin et il a pu observer et isoler des races qui, bien qu'incapables en cultures pures de produire des zygospores en donnent aussitôt qu'on les met en présence l'une de l'autre. Ces deux races différentes sont désignées par BLAKESLEE au moyen de signe + et —. On divise alors les Mucorinées en deux catégories.

1° Les *Mucorinées homothalliques* qui produisent des zygospores à partir du mycélium, provenant lui-même de spores d'un même sporange (*Sporodinia*).

2° Les *Mucorinées hétérothalliques* chez lesquelles on constate deux races + et —, et dont les zygospores ne se forment que si les mycélium de ces deux races se trouvent en contact l'un de l'autre. Exemple : *Rhizopus nigricans*.

#### Clef des Mucorées parasites.

	Genres.
Mycélium rameux, mais pourvu de rhizoïdes. . . . .	<i>Mucor</i> .
Mycélium pourvu de stolons portant ici et là des rhizoïdes en bouquets. {	
Stolons irréguliers, pédoncules sporangifères simples, fasciculés, columelle, ovoïde, rétrécie à la base. .	<i>Rhizomucor</i> .
Stolons réguliers; pédoncules sporangifères simples, fasciculés, columelle hémisphérique, persistante, en forme de massue ou de champignon. . . . .	<i>Rhizopus</i> .

Genre *Mucor* LINNÉ, 1764. — Mycélium très ramifié sans rhizoïdes. Le sporange est sphéroïdal, la columelle cylindrique.

## Principales espèces :

**Mucor Mucedo** L.**Mucor racemosus** Fr.**Mucor pusillus** Lindt (pathogène).**Mucor Regneri** LUCET et COSTANTIN (pathogène).**Mucor corymbifer**, F. COHN (pathogène).**Mucor Truchisi** LUCET et COSTANTIN.

Nous ne parlerons ici que des espèces pathogènes.

**Mucor pusillus** LINDT. — Les hyphes sporangifères sont dressées, mesurant au maximum 1 millimètre, d'abord blanches puis jaunes brunâtres, gazonnantes, simples, puis munies d'un ou deux rameaux dont le sporange est plus petit que celui de l'axe principal. Sporangies globuleux dont la membrane est parsemée de fines aiguilles d'oxalate de chaux, incolores puis gris noirâtre, de 60 à 80  $\mu$ , diffuents avec collerette basilaire, la columelle est ovoïde, sphérique ou claviforme, lisse gris jaunâtre, puis brun clair. Les spores sont sphériques, lisses, incolores et mesurent 3 à 3,5  $\mu$ .



Fig. 3. *Mucor pusillus*  $\times 330$   
d'après Lindt.

Les zygospores sont inconnues.

Trouvé par LINDT sur du pain mouillé à Berne. Il végète très bien sur gélose sucrée, pomme de terre, bouillon, etc.

Pathogène pour le lapin.

**Mucor Regneri** LUCET COSTANTIN. Syn. *Lichtheimia Regneri* VUILLEMIN. — Mycélium gris brunâtre pâle. Hyphes sporangifères ramifiées en grappe corymbiforme ou en ombelle terminale à rayons inégaux. Pédicelles renflés sous les sporanges, de manière à paraître séparés de la columelle par un étranglement. Sporangies globuleux, de 30-38  $\mu$  au-dessous de + 20°, de 19 à + 50°, grisâtres avec collerette basilaire peu marquée.

Columelle ovoïde, piriforme ou en toupie, brun clair ainsi que le sommet du pied, et de 11, 23, 35  $\mu$ ; spores sphériques incolores de 2,5  $\mu$  à 3  $\mu$  7, mais souvent aussi ovales de 3,8 à 5  $\mu$ , sur 3,2 à 2,9, parfois même elles sont polyédriques. On n'a pas encore pu voir de zygospores.

Trouvé en saprophytes sur des lésions teigneuses de la peau d'un cheval. Inoculé à des lapins, il occasionne la mort.

**Mucor corymbifer**, F. COHN. Syn. *Lichtheimia corymbifer*,

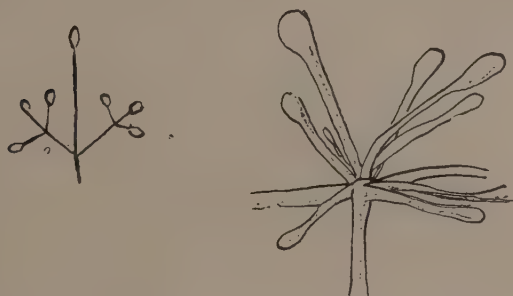


Fig. 4 et 5. *Mucor corymbifer* : Port de la plante et corymbe plus grossi  $\times 270$ .

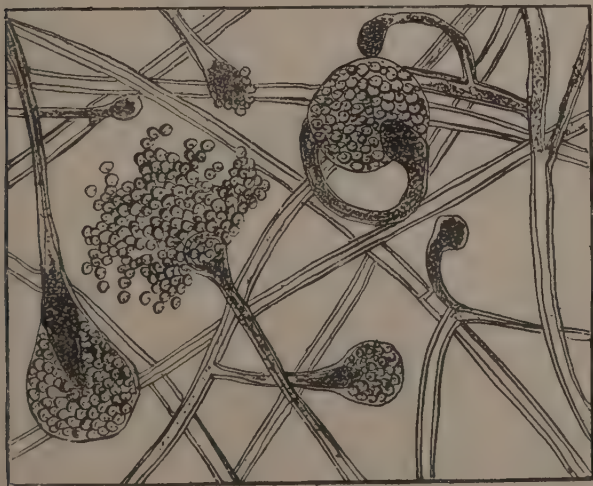


Fig. 6. *Mucor corymbifer*. Hyphes et sporanges d'ap. Langeron.

VUILLEMIN. — Mycélium d'abord blanc, puis gris pâle. Hyphes sporangifères rampantes, ramifiées en grappes corymbiformes portant un nombre de sporanges parfois assez grand jusqu'à 12 et même plus. Les sporanges sont hyalins, piriformes, de 10, 20  $\mu$ , 45, 50, et jusqu'à 70  $\mu$  de diamètre, lisses, diffluent avec ou sans collerette basilaire, columelle hémisphérique, élargie en dôme au sommet de 10 à 20  $\mu$ . brunâtre, lisse ou verruqueuse; spores elliptiques, hyalines, de 3 = 2  $\mu$  ou quelquefois de 6,5  $\mu$  = 4  $\mu$ . Zygospores énormes.



Fig. 7. *Mucor corymbifer* (sporangie).

Ce mucor a été découvert par *Lichtheim* à Berne en 1884 et décrit par *F. Cohn*. *Pathogène pour l'homme*.

PALTAUF, SIEBENMANN, HUCKEL, GRAHAM, SARTORY l'ont signalé dans divers cas (otomycoses et accidents pulmonaires).

***Mucor Truchisi* LUCET ET COSTANTIN.** Syn. *Lichtheimia Truchisi*, VUILLEMIN. — Mycélium gris pâle. Hyphes sporangifères ramifiées en grappe corymbiforme ou en ombelle à rayons inégaux.

Sporanges sphériques possédant une membrane incolore, lisse de 35  $\mu$ , diffluent avec collerette basilaire strangulante. La columelle est piriforme de 4 à 30  $\mu$ , les spores sont ovoïdes, incolores de 4 = 2,5, quelquefois plus petites 3,75 = 3,5 ou parfois plus grosses (4,5 = 3). Les zygospores sont inconnues.

*Pathogène pour le lapin.*

### **Genre *Rhizomucor*, COSTANTIN ET LUCET 1900.**

Stolons et rhizoïdes irrégulièrement disposés; hyphes sporangifères ramifiées. Sporangie à diffluence strangulante, avec collerette découpée, columelle ovoïde.

***Rhizomucor parasiticus*, COSTANTIN ET LUCET.** — Le mycélium est gris souris, puis brun jaune, gazonnant. Les sporanges sont souvent disposés en grappe ou en corymbe. Présence de rhizoïdes irréguliers à la base des hyphes sporangifères. Les sporanges sont sphériques de 35 à 80  $\mu$ , ils sont recouverts de fines aiguilles cristallines, columelle ovoïde ou piriforme brunâtre de 30 — 70  $\mu$  = 24 — 26  $\mu$ . Spores rondes ou ovoïdes, hyalines de 4 = 2,5  $\mu$ . Zygospores inconnues. Optimum cultural 38-40°. Cette

Mucorinée a été trouvée dans les crachats d'une femme atteinte de

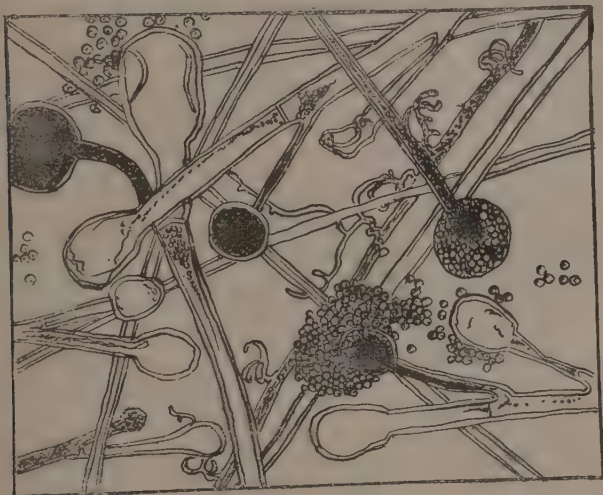


Fig. 8. *Rhizomucor parasiticus* (d'après Langeron.)

pseudo-tuberculose. Pathogène pour le lapin, le cobaye et la poule en injections intraveineuses ou intrapéritonéales. Pas pathogène pour le chien.

Végétation luxuriante sur les milieux glucosés.

***Rhizomucor septatus*, COSTANTIN ET LUCET.**  
 — Mycélium incolore. Hyphes sporangifères brunes, ramifiées en grappes ou parfois en ombelle, et présentant à leur base de petits rhizoïdes. Pédicelles secondaires courts et séparés sur pied par une cloison transversale. Sporangies sphériques, brun-grisâtre pâle, transparents, lisses ou légèrement mûriformes, de 32  $\mu$ . Columelle brune, sphérique ou faiblement ovoïde de 27  $\mu$ , spores jaune clair ou brun pâle, lisses, rondes ou légèrement ovales, de 2,5 à 4  $\mu$ .



Fig. 9. *Rhizomucor septatus* (sporangium et columelle).



Trouvé par SIEBENMANN dans le conduit auditif externe de l'homme.

**Genre *Rhizopus*, EHRENBURG, 1818.**

Mycélium d'abord blanc, puis souvent brunâtre, à stolons rampants, munis de distance en distance de crampons multi-



Fig. 10. *Rhizopus niger* d'après Ciaglinski.

fides fasciculés au-dessus desquels naissent des sporanges isolés ou en bouquet, à pédoncules simples, droits ou incurvés au sommet. Sporangies globuleux; apophyse hémisphérique, s'affaissant sur le pied après la déhiscence, et simulant alors un chapeau de champignon. Spores globuleuses lisses ou ornées souvent colorées.

Principales espèces :

***Rhizopus nigricans*, EHRENBURG.**

***Rhizopus niger*, GEDCÆLST.**

***Rhizopus Cohni*, BERLÈSE ET DE TONI.**

***Rhizopus équinus*, COSTANTIN ET LUCET.**

Les deux derniers seulement sont *pathogènes*.

***Rhizopus Cohni*, BERLÈSE ET DE TONI.** — Mycélium blanc, puis gris souris. Stolons en arcades à rhizoïdes terminaux. Hyphes



sporangifères brunâtres, de 120 à 125  $\mu$  lisses, apophyses ; sporanges sphériques d'abord blancs puis noirâtres, opaques ; très finement incrustés d'oxalate de chaux de 60 à 110  $\mu$ . Columelle ovoïde ou en pilon, nettement tronquée à la base, largement apophysée, brunâtre, lisse, large de 50 à 75  $\mu$  ; spores subsphériques ou sphériques lisses, incolores, de 5 à 6  $\mu$ . Zygosporos et chlamydosporos inconnues. Trouvé par LICHTHEIM sur du pain mouillé. Optimum cultural. + 37-38°. Spores lisses à 68°. Pathogène pour le lapin en injections intraveineuses ou intrapéritonéales.

**Rhizopus equinus.** COSTANTIN et LUCET. — Hyphes sporangifères d'abord simples, puis groupées en bouquets. Pas de rhizoïdes. Pédicelle ocracé, de 100, 200, 610, 665  $\mu$ . Sporanges globuleux noirs, de 115  $\mu$ , d'autres plus petits mesurent 30  $\mu$  ; columelle globuleuse, lisse, jaune pâle de 40 = 50, 31 = 45  $\mu$ . Spores arrondies, parfois un peu anguleuses, grises, lisses de 4  $\mu$ . Chlamydosporos bien uniformes de 30 à 40 = 25  $\mu$  ou arrondies de 20  $\mu$ . Zygosporos inconnues.

Rencontré sur un cheval. Optimum cultural + 37° ; spores tuées en 20 minutes à + 100° (chaleur humide), ou en 30 minutes à 100° (chaleur sèche). Tue le lapin en trois à cinq jours. Sans action sur la poule.

### **Genre *Mortierella*. COEMANS, 1863.**

Mycélium ramifié dichotomiquement anastomosé, garni de stylospores échinulées (conidies). Hyphes sporangifères isolées ou fasciculées, renflées à la base, dressées, parfois rameuses, terminées par des sporanges volumineux, sphériques, lisses, sans columelle. Sporangioles disposés sur des rameaux secondaires, spores petites, globuleuses ou ellipsoïdes inégales, guttulées. Zygosporos à courts suspenseurs et abondamment cortiqués.

NEUMANN rencontra dans la trachée d'un chat ayant succombé à l'asphyxie, un enduit mycélien entremêlé de spores échinulées de 18  $\mu$ . COSTANTIN considère ces spores comme des conidies de *Mortierella*?

## **ENTOMOPHTORACÉES**

**Caractères généraux.** — Le thalle des Entomophthoracées est formé de filaments mycéliens de gros calibre continus ou

coupés de trois cloisons se dissociant fréquemment dans le corps de l'insecte envahi par le champignon en articles ressemblant aux oïdies de divers *Mucors*.

Certains filaments du thalle, percent le corps de l'hôte, se dressent en l'air, puis, avec ou sans ramification préalable, se renflent en autant de massues renversées produisant à leur sommet une grosse conidie sphérique ovoïde ou cylindro-conique, insérée sur une large base, fréquemment pourvue d'une petite pointe à son sommet libre et contenant un ou plusieurs globules oléagineux. Cette conidie se détache par projection et peut donner sur un milieu nutritif favorable un nouveau thalle. Si elle rencontre un milieu impropre, elle germe en donnant une conidie plus petite presque sombre appelée *conidie secondaire*.

Pendant l'hiver deux filaments ou deux portions contiguës d'un même filament émettent l'un vers l'autre deux tubes qui s'anastomosent et forment un œuf (zygospore) ou *spore tarichiale* qui s'entoure d'une membrane épaisse et semble pouvoir germer ultérieurement.

#### TABLEAU DES CARACTÈRES PRINCIPAUX DES EMTOMOPHTORÉES (d'après GUEGUEN).

Parasites des animaux	Conidies lisses	Mycélium contenu tout entier dans l'insecte et souvent fragmenté. Pas de crampons . . . . .	<i>Empusa</i> .
		Mycélium d'abord filamenteux puis dissocié. Zygospores brunes, à surface ornée (genre provisoire) . . . . .	<i>Tarichium</i> .
Parasites des végétaux ou saprophytes	Conidies verruqueuses	Mycélium émettant des hyphes externes munies de crampons; conidiophores ordinairement rameux . . . . .	<i>Entomophthora</i> .
		Conidies verruqueuses. Mycélium dépourvu de crampons . . . . .	<i>Massospora</i> .
	Conidies secondaires	Mycélium vésiculeux avec zygospores intercalaires. Vivent sur prothalle de fougère . . . . .	<i>Completozia</i> .
		Mycélium ramifié; conidiophores en grosse vésicule. Zygospores nées par copulation entre deux articles contigus d'une même hyphe. Plante vivant sur excréments de batraciens ou sur bactéries . . . . .	<i>Basidiobolus</i> .
		Conidiophores presque cylindriques. Œufs formés par conjugaison entre plusieurs hyphes. Vit sur les champignons supérieurs ou en saprophyte . . . . .	<i>Conidiobolus</i> .
		Conidies secondaires naissant sur toute la périphérie de la conidie primaire. Œuf inconnu. Saprophyte (?) . . . . .	<i>Boudierella</i> .

**Genre *Empusa*, F. COHN, 1855.**

Mycélium contenu tout entier dans le corps de l'hôte et dépourvu de crampons. Conidiophores incolores, simples, claviformes, faisant saillie sous des téguments du cadavre.

**Principales espèces :**

*Empusa Muscæ*. F. COHN. Très commun sur les mouches.

*Empusa Grylli*. NOWAKOWSKI. Commun à la fin de l'été sur beaucoup de *Lépidoptères*.

*Empusa conglomerata*. THAXTER. Sur les *Diptères* (larves et imagines).

*Empusa Tenthredinis*. THAXTER. Sur les larves de *Tenthredines*.

*Empusa Planchoniana*. THAXTER. Sur plusieurs genres d'Aphidiens.

*Empusa Fresenii*. THAXTER. Sur Hémiptères *Aphis Mali*.

*Empusa curvispora*. NOWAKOWSKI. Sur un Diptère *Simulia latipes*.

*Empusa ovispora*. NOWAKOWSKI. Sur Diptères (*Lonchæa vaginalis*, *Sapromyza*, *Syrphides*, etc.).

*Empusa Plusiæ*. Sur chenille de *Plusia Gamma* GIARD (*Lépidoptères*).

*Empusa Muscæ*. F. COHN. — Conidiophores d'abord elliptiques, puis claviformes, dressés de  $9 - 11 = 20 - 28 \mu$ , simples, hyalins, se montrant d'abord entre les anneaux du corps de l'insecte, puis envahissant toute la surface. Conidies primaires subglobuleuses ou légèrement ovoïdes, apiculées, de  $16 - 23 \mu$ ,  $20 = 33$ ,  $25 = 30 \mu$ , hyalins uniguttulées. Conidies secondaires semblables provenant du bourgeonnement direct des premières. Zygosporos se formant en hiver.

Cadavre fixé par la trompe. Très commun sur les mouches *Musca domestica*, *Lucilia Caesar*, *Calliphora vomitoria* etc.

**Genre *Entomophthora* F. COHN, 1855.**

Mycélium formé d'hyphes cylindriques ou plus ou moins globuleuses, émettant autour du corps de l'hôte des filaments indivis terminés par des crampons qui fixent l'insecte au support. Conidiophores très fréquemment rameux.

Principales espèces :

***Entomophthora Culicis*.** FRES., sur *Culex*, *Simulium*, et sur d'autres petits Diptères. (Été).

***Entomophthora apiculata*.** THAXTER, sur Lépidoptère (*Chenilles d'Hyphantria textor*) sur Diptères. (Cousins et petites Mouches), sur Hémiptères (imago de *Typhlocyba*.)

***Entomophthora Papillata*** THAXTER : Sur quelques petits Diptères.

***Entomophthora sphaerosperma*** THAXTER : Sur Orthoptères (larve et imago d'un *Thrips* du Solidago; Neuroptères; Hémiptères. (Aphis). Coléoptères (larve de *Phytonomus punctatus*, imago de *Lampyris*).

***Entomophthora Aphidis*.** THAXTER. Sur nombreux Aphides.

***Entomophthora conica*.** NOWAKOWSKI sur Diptères. *Chironomus* à l'état parfait.

***Entomophthora muscivora*.** SCHRAETER, sur Diptères du g. *Calliphora*.

***Entomophthora Carpentieri*.** GIARD., nom. nud. (*Lophorhiza Carpentieri*), GIARD. Sur *Agriotes spectator* et sur *Etaler*. (Coléoptères.)

***Entomophthora* (?) *arrenoctona*.** GIARD, sur *Tipula paludosa*.

***Entomophthora Syrphi*.** GIARD (nom. nud.). Sur *Melanostoma mellina* et *Syrphus gracilis*. (Syrphides).

***Entomophthora scatophaga*.** GIARD, sur Diptères, (*Scatophaga merdaria*.) Trouvé à Valenciennes sur ce Diptère.

**Entomophthora Tipulæ.** FR. Sur Diptères, grande *Tipule*.

**Entomophthora (?) gleospora.** VUILLEMIN. Trouvé par VUILLEMIN sur un Diptère du genre *Simulia*.

**Entomophthora (?) saccharina.** GIARD. Parasite sur les *Bruches* de l'*Euchelia Jacobæa*.

**Entomophthora (?) Forficulae.** GIARD. Sur *Forficula auricularia*. (Orthoptères.)

**Entomophthora (?) Cyrtoneuræ.** GIARD. Trouvé sur des Diptères. (*Cyrtoneura hortorum*).

**Entomophthora Aphrophoræ** sur *Aphrophora spumaria*.

### SAPROLEGNIACÉES

Champignons oomycètes aquatiques dont le thalle non cloisonné est entouré d'une membrane celluloso-callosique. Œuf résultant de la fusion de deux cellules dissemblables (pollinide ♂, oosphère ♀) Les Saprolegniées sont saprophytes et vivent pour la plupart dans l'eau ou au sein des liquides contenant des matières organiques. Leur multiplication, se fait, comme pour tout thallophyte aquatique par zoospores provenant d'un sporange et par œufs.

La formation de l'oogone et de la pollinide est à peu près identique chez les Saprolegniées et les Peronosporées. Cependant l'oogone des Saprolegniées renferme *plusieurs oosphères* et *plusieurs pollinides* qui peuvent s'appliquer contre un même oogone et féconder plusieurs oosphères.

#### Clef des Saprolegniacées parasites des animaux.

Oogones à plusieurs oosphères :

Saprolegniées	{	Zoosporanges claviformes terminant les filaments . . . . .	<i>Saprolegnia</i> .
		Zoosporanges claviformes ou fusiformes, appendus latéralement aux filaments . . . . .	

Une seule oosphère :

Pythiées . . . . .	{	<i>Pythium</i> .
		<i>Lithopythium</i> .
		<i>Ostracoblabe(?)</i>

**Genre *Saprolegnia*. NEES ab. ESENB. 1823.**

Mycelium filamenteux, ramifié. Zoosporanges claviformes terminaux, dans l'axe desquels continue à s'accroître le filament sous-jacent de manière à former plusieurs sporanges emboîtés. Oogones à plusieurs oosphères. Antheridies petites, claviformes ou ovales, développées au sommet de rameaux grêles.

Principales espèces :

***Saprolegnia monoïca*. PRINGSHEIM.** — Sur les cadavres d'Insectes tombés dans l'eau, d'*Écrevisses*, de *Poissons*. Parasite des Poissons et des Crustacés.

***Saprolegnia ferax*. NEES.** — Plante gazonnante d'environ 1 cm. 5 de hauteur dont l'extrémité des filaments atteint 75  $\mu$ . Anthéridies absentes ou formées sur des branches spéciales, oogones terminaux, en grappe, sphériques, de 40 à 80  $\mu$ , ou ovales, limoniformes, cylindriques-arrondis, à paroi lisse marquée de nombreuses perforations; œufs sphériques, lisses, centriques de 20 à 27  $\mu$ , réunis parfois au nombre de 40 ou 50 dans le même oogone, parfois isolés dans les oogones nains, et germant en mycelium ou en zoosporanges, après un repos de 45-92 jours.

**Genre *Achlya*. NEESS. 1823.**

Caractères généraux des *Saprolegnia*. Zoosporanges claviformes ou fusiformes, groupés en sympodes le long d'un filament, et renfermant de nombreuses zoospores disposées sans ordre (zoospores de première formation), qui, sorties du zoosporange, produisent des zoospores de seconde formation. Oogones toujours à plusieurs oosphères.

Principales espèces :

***Achlya prolifera*. NEESS.** — Sur divers animaux aquatiques. Salamandre, Tortue, etc....

***Achlya racemosa*. HILDEBRAND.** — Sur les Poissons.

***Achlya Nowiekie*. RACIBORSKI.** — Sur des Poissons.



**Achlya prolifera.** NEES. — Gazon médiocre, de 1 cm. 5 de haut, à filaments de 25 à 75  $\mu$  de diamètre. Anthéridies nées sur des filaments qui s'enroulent autour du pied allongé de l'oogone. Oogones sphériques disposés sans ordre, lisses, incolores, à membrane portant des perforations; œufs sphériques, lisses, excentriques, de 20-26, nombreux, germant après un repos de 200 jours.

## CHAPITRE XV

### ASCOMYCÈTES

Champignons à thalle cloisonné, se reproduisant à l'aide de spores formées à l'intérieur d'une cellule nommée asque.

#### Classification de Van Tieghem.

Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	<i>Exoascées.</i> <i>Patellariées.</i> <i>Hysteriacées.</i> <i>Ascobolées.</i> <i>Pezizes.</i>
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; asques proéminents à maturité . . . . . Charnu, toujours ouvert; asques non proéminents . . . . .	
						Asques groupés sur une sorte de coussinet.
Asques enfermés dans une cavité close. (Périthèce).	Déhiscence au sommet.	Pyrenomycètes.	Indéhiscence	Perisporiacées	Asques isolés, ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires . De consistance subéreuse ou coriace, cupuliforme. . . . . De consistance cornée, s'ouvrant par un couvercle ou des fentes. Gélatineux, d'abord clos, puis largement ouvert; as	

**DISCOMYCÈTES.**

Asques exposés à l'air libre, soit isolés, soit groupés à la surface d'un réceptacle cupuliforme.

**FAMILLE DES SACCHAROMYCETÉES**

(d'après Guilliermond) (1).

Champignons unicellulaires se multipliant par bourgeonnement, parfois par cloisonnement et formant des asques. Chaque cellule peut se transformer en asques et engendrer 1 à 4, rarement jusqu'à 12 ascospores; chaque ascospore développe une cellule végétative.

**PREMIER GROUPE.**

Levure se multipliant par cloisonnement, asques souvent dérivés d'une copulation, à quatre ou huit ascospores, pourvus d'une seule membrane.

Genre I. **Schizosaccharomyces** LINDNER. — Levures bourgeonnantes, phénomènes sexuels, quelquefois à l'état de vestige seulement, à l'origine de l'asque.

Genre II. **Zygosaccharomyces** BARKER. — Asques précédés d'une copulation, ascospores à membrane lisse.

Genre III. **Debaryomyces** KLÖCKER. — Asques dérivés de copulation, ascospores globuleux pourvus d'une seule membrane verruqueuse.

**Genre *Nematospora* PEGLION.**

Levures bourgeonnantes, asques à 4 ascospores fusiformes terminées par un cil.

**FAMILLE DES NON SACCHAROMYCETÉES.**

Levures bourgeonnantes ne formant pas d'asques.

Genre I. **Torula** TURPIN. — Cellules généralement sphériques,

---

1 GUILLIERMOND. *Les levures*, 1 vol. Collection de l'Encyclopédie scientifique.

formant souvent des voiles, mais seulement après la fermentation; voiles toujours visqueux sans interposition d'air.

Genre II. **Mycoderma** PERSOON. — Cellules généralement allongées. Voile apparaissant dès le début du développement avec interposition de l'air.

Genre III. **Cryptococcus** KUTZING. — Levures sans asques, parasites des animaux.

Genre IV. **Schwaniomyces** KLÖCKER. — Vestige de copulation; ascospores à une seule membrane verruqueuse, sessiles au milieu d'un filet saillant.

Genre V. **Torulaspora** LINDNER. — Cellules rondes ressemblant à une *Torula*. Asques présentant des vestiges de copulation à leur origine.

### TROISIÈME GROUPE.

Genre VI. **Saccharomyces**. — Cellules se divisant par un procédé intermédiaire entre le bourgeonnement et le cloisonnement. Fréquence de rudiments mycéliens avec cloisons transversales. Ascospores à une seule membrane germant dans une seule direction sous forme d'un tube qui se renfle et se sépare de l'ascospore par la formation d'une cloison transverse accompagnée d'une légère constriction circulaire.

Genre VII. **Saccharomycopsis**. — Ascospores à deux membranes.

Genre VIII. — Ascospores à une seule membrane germant par bourgeonnement, quelquefois formation de rudiments mycéliens.

Six sous-groupes de *Saccharomyces* basées sur la fermentation ou la non fermentation de certains sucres.

Genre IX. **Hansenia** LINDNER. — Cellule apiculée, asque à une seule ascospore.

---

(1) Nous n'adoptons pas les termes *Atelosaccharomyces*, *Parasaccharomyces*, *Zymonema*, estimant avec GUILLERMOND que les levures pathogènes sont trop peu connues pour pouvoir adopter cette classification encore prématurée.

Genre X. **Pichia** HANSEN. — Ascospores hémisphériques ou anguleuses. Rudiment mycélien très développé. Pas de fermentation.

Genre XI. **Willia**. — Ascospores en forme de citron ou chapeau avec filet saillant. Pas de fermentation mais des éthers.

Genre XII. **Monospora**. — Levures bourgeonnantes, aiguës à une seule ascospore en forme d'aiguille, germant latéralement avec bourgeonnement.

### **SACCHAROMYCES.** MEYEN, 1838.

**Saccharomyces.** MEYEN, 1838. — Thalle formé d'articles isolés, gemmipares, bourgeons (conidies), catenulés, rameux, dissociés. Asques subglobuleux ou ellipsoïdes, le plus souvent tétraspores. Spores globuleuses très rarement subreniformes, continues, hyalines.

**Saccharomyces anginæ.** VUILLEMIN 1901. — Trouvé et décrit par TROISIER et ACHALME dans une angine crémeuse développée chez un typhique. Ce parasite se différencie du muguet en ce qu'il ne se présente jamais sous la forme filamenteuse mais seulement sous forme de masses ovalaires mesurant de 8 à 9  $\mu$  = 5,6  $\mu$ , bourgeonnants, donnant en culture des ascospores de 2  $\mu$  et produisant sur carotte une culture gris rosé. Il produit une fermentation alcoolique très énergique. Les caractères de ce *saccharomyces* étant très voisins de ceux de l'*Endomyces albicans*, il y a lieu de se demander s'il ne constituerait pas une simple variété du Champignon du muguet.

Pas de liquéfaction de la gélatine, sur carotte et pomme de terre, culture épaisse, bombée, cohérente, gris rosé. (Planche II, fig. 5).

**Saccharomyces tuméfaciens.** BUSSE, 1897. — Découvert par CURTIS en 1896 dans une tumeur myxomateuse de la cuisse et dans un abcès volumineux de la région lombaire. Il est constitué par des cellules sphériques de 16 à 20  $\mu$  contenant des grains réfringents et produisant des bourgeons. Le fait intéressant c'est que chaque élément cellulaire est entouré d'une couche épaisse de substance gélifiée, de 8 à 10  $\mu$  d'épaisseur, formant une auréole autour d'elle. Le parasite mesure dans sa totalité environ 40  $\mu$  de diamètre. La culture se fait fort bien sur milieu

légèrement acide et se présente sous forme de colonie blanchâtre, épaisse, crémeuse.

La capsule disparaît par la culture et la levure mesure alors de 3 à 5  $\mu$  de diamètre.

Pathogène pour le Rat, la Souris, le Chien. Elle donne naissance à une tumeur du même type mais peut donner lieu à une affection généralisée.

*Caractères biologiques.* — Pas de liquéfaction de la gélatine; sur *bouillon* culture maigre, dépôt floconneux. Sur *gélose*, petites colonies punctiformes, bientôt fusionnées en strie épaisse. Sur *pomme de terre*, strie continue, sèche, blanche, puis brune. Optimum cultural + 37°.

Fait fermenter le saccharose mais non le maltose et le lactose.

**Saccharomyces granulatus.** VUILLEMIN ET LEGRAIN, 1900. —



Fig. 11. *Saccharomyces granulatus*  
(d'après Vuillemin).



Trouvé par LEGRAIN dans une tumeur de la région maxillaire. Cette tumeur contenait un liquide séro-sanguinolent renfermant le parasite.

Le liquide ensemencé a donné des cultures pures d'une levure formée d'éléments ovoïdes ou ellipsoïdes de 4 à 5  $\mu$  de long sur 3  $\mu$  5 à 4  $\mu$  de large, isolés ou bourgeonnants. Cette levure produit un pigment rose. La membrane d'enveloppe se revêt souvent d'une cuticule sculptée de saillies granuleuses pouvant être rejetée par une sorte de mue. La levure se cultive bien sur les milieux usuels en donnant un enduit épais, humide et luisant sur les milieux solides.

*Caractères biologiques.* — Sur *bouillon* et *milieux liquides glucosés*, pas de voile, sédiment rose, pâteux. Sur *gélatine* pas de liquéfaction. Sur *gélose*, *carotte*, *betterave*, *chou*, enduit lisse, brillant, humide, souvent coulant. Sur *pomme de terre*, couche sèche.

Peu pathogène pour le Lapin en injections péritonéales et hypodermiques, plus actives en injections intraveineuses (fig. 11).

**Saccharomyces Blanchardi.** GUIART 1906. — Le Saccha-



romyces Blanchardi a été trouvé dans une tumeur péritonéale. Les cellules de la levure ont une paroi à double contour.

Elles sont entourées d'une zone mucilagineuse aussi épaisse que la largeur de la cellule; éléments bourgeonnants souvent inclus dans une capsule commune.

Dimensions variant de 15 à 20  $\mu$ .

Elle est pathogène pour les animaux de laboratoire.

*Caractères biologiques.* — Sur *gélatine* liquéfaction lente en entonnoir, trace blanc grisâtre, muqueuse homogène. Sur *gélose*, culture épaisse, blanc jaunâtre, irrégulièrement chagrinée. Sur *pomme de terre*, enduit d'abord muqueux et blanc jaunâtre, puis verruqueux et brun clair. Sur *carotte*, culture abondante, visqueuse.

**Saccharomyces Le Monnieri.** SARTORY et LASSEUR. — Cette levure a été isolée de crachats d'un individu atteint de bronchite et de congestion pulmonaire. Elle consiste en éléments arrondis enveloppés d'une capsule peu épaisse, et mesurant 3,1  $\mu$  à 3,5  $\mu$  de diamètre.

Cette levure croît facilement sur les principaux milieux employés en mycologie; son bourgeonnement s'y effectue comme chez les saccharomyces.

L'optimum de croissance se trouve compris entre +25 et +30° à +37° la levure végète encore assez bien; à +40° elle cesse de végéter.

Les conditions d'apparition de voile sur bouillon pepto-glycériné sont les suivantes :

- à + 40° et à + 38° pas de voile
- à + 37° — 36° voile après 3-4 jours
- à + 26° — 28° voile après 2-3 jours
- à + 20° — 22°, voile après 6 jours
- à + 15° — 18°, pas de voile

La formation des asques a été obtenue sur bloc de plâtre. Chacun des asques renferme 4 spores sphériques mesurant 2,5 à 3  $\mu$  de diamètre et disposées en tétrades. Sur *carotte*, développement rapide, colonie blanche, épaisse. Sur *pomme de terre simple*, *pomme de terre acide*, *pomme de terre glycinée* la végétation est plus lente il se forme de petites colonies très saillantes, d'un blanc crème. Sur *gélose*, la culture, d'abord blanchâtre devient rapidement brun chocolat.

Pathogène pour le lapin et le cobaye. — Agglutination et fixation du complément positives.

**Genre *Cryptococcus* KUTZING.**

***Cryptococcus degenerans* VUILLEMIN.** — Ce parasite a été trouvé par RONCALI dans un adénocarcinome de l'ovaire, et dans un ganglion de l'aisselle chez une femme atteinte d'un sarcome du sein. Ce cryptococcus serait constitué par des cellules arrondies à membrane réfringente chromatophile à double contour; il est intracellulaire et les cellules peuvent renfermer 3, 4, 6, 8 de ces parasites. Pathogène.

***Cryptococcus linguæ-pilosæ* (LUCET 1901).** — Syn. : *Saccharomyces linguæ-pilosæ* (Lucet 1901). Isolé par LUCET d'une lésion

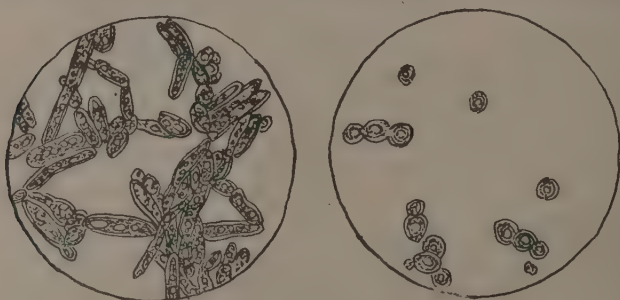


Fig. 12. *Cryptococcus linguæ-pilosæ* (d'après Lucet).

de la langue chez un malade présentant de la mélanotrichie linguale. Ce parasite est constitué par des cellules rondes, ovoïdes ou allongées variant de 4 à 18  $\mu$  de long sur 4 à 6  $\mu$  de large. Il se reproduit par bourgeonnement; ce bourgeonnement est terminal dans les formes allongées.

Ce cryptococcus a été retrouvé par ROGER et WEILL. GUEGUEN étudiant plusieurs cas de langue noire a isolé le cryptococcus de Lucet vivant en symbiose avec un *Oospora* auquel il a donné le nom d'*Oospora lingualis* G.

***Cryptococcus hominis* VUILLEMIN.** Syn. : *Saccharomyces sp.* BUSSE, 1894. — *Atelosaccharomyces* BUSSE-BUSCHKI. DE BEURMANN et GOUGEROT; *Atelosaccharomyces* HUDELI DE BEURMANN et GOUGEROT.

Découvert par Busse en 1897 dans une inflammation sous-périostée du tibia avec lésion purulente de la peau.

Le pus renfermait de nombreux grains de levure bourgeonnant. Cellules ovoïdes pointues à une extrémité. Dimensions variables.

**Cryptococcus Rogeri.** SARTORY, DEMANCHIE. — Cette levure a été isolée par SARTORY et DEMANCHIE d'un pus de péritonite par perforation de l'estomac. Examiné au microscope, elle présente une forme allongée à contours nets de 8 à 10  $\mu$  sur 2 à 3  $\mu$ , son bourgeonnement s'effectue à la façon des levures. Elle est pathogène pour le lapin et le cobaye. Elle végète sur tous les milieux usuels employés en mycologie. Retrouvé par BEAUVIERE qui l'isola d'un exsudat pharyngé crémeux chez un typhique ayant également *C. Salmonis* SARTORY.

### **Genre Endomyces.** REEN, 1870.

Le genre *Endomyces* (famille des Endomycetées) est caractérisé par un mycélium typique, cloisonné et ramifié donnant naissance soit à des formes levures, soit à des oïdies, généralement aussi à des chlamydospores et enfin à des asques à 4 ascospores. Ceux-ci naissent toujours aux dépens des cellules du mycélium, le plus souvent aux extrémités des rameaux de ce dernier, exceptionnellement dans une cellule quelconque du mycélium. Le genre *Endomyces* se différencie donc des *Saccharomycetées*, par un mycélium typique et par ses asques qui se forment toujours aux dépens du mycélium et jamais comme dans les *Saccharomycetées* dans une cellule levure.

**Endomyces albicans.** VUILLEMIN. — Syn : *Oidium albicans*. ROBIN. *Saccharomyces albicans*. L'*Endomyces albicans* produit la maladie appelée stomatite crémeuse ou muguet.

Les plaques pseudo-membraneuses du muguet contiennent en majeure partie le parasite associé à des cellules épithéliales, le tout réuni par le mucus buccal. Le parasite est constitué par des filaments cloisonnés et ramifiés et par des éléments sphériques ou ovoïdes pouvant bourgeonner à la manière des levures. Ces dernières cellules peuvent se rencontrer seules, à l'exclusion des filaments.

D'après LIXOSSIER et ROUX, la forme levure constituerait le mode végétatif normal de la plante. Le filament apparaîtrait au fur et à mesure de la complication chimique de l'aliment. Il

pourrait prendre naissance aussi sous l'influence de mauvaises conditions de vie.

LINOSSIER et ROUX ont décrit des spores mesurant de 10 à 20  $\mu$  de diamètre, entourées d'une membrane résistante et se développant à la suite de conditions extérieures défavorables, à l'extrémité de certains chapelets de cellules ovalaires, dont les plus terminales sont gorgées de glycogène. Ce sont des chlamydospores, formes de résistance qui peuvent bourgeonner et produire de nouveaux filaments transportées sur un milieu favorable.

VUILLEMIN a observé des globules elliptiques qui peuvent se développer à la périphérie des filaments ou à l'intérieur des filaments. Ce sont également des formes de résistance.

En 1898 VUILLEMIN a découvert le véritable organe reproducteur. Il consiste en asques. L'asque elliptique ou sphérique mesure 4 à 5  $\mu$  de diamètre et contient 4 spores. L'ascospore longue de 3  $\mu$  à 3  $\mu$  5 est ellipsoïdale. C'est à la suite de cette découverte que VUILLEMIN a fait rentrer le champignon du muguet dans le genre *Endomyces*.

### Principales levures parasites de l'homme et des animaux

#### Schizosaccharomyces

##### Espèces.

<i>Sch. Chermetis abietis</i> . KAREL SULC.	Dans le pseudo vitellius du Chermes abietus. (Homoptère).	Cellules ovales, allongées à extrémités arrondies se multipliant par scissiparité.
<i>Sch. Chermetis strobili</i> . K. SULC.	Dans le pseudo vitellius du Chermes strobilobius. (Homoptère).	Cellules courtes, 1 à 2 de larg. N'a pu être cultivée.

#### Zygosaccharomyces.

<i>Zyg. priorianus</i> .	Isolée du corps des abeilles.	Cellules de formes variables, allongées, arrondies ou ovales. Sporulant facilement.
--------------------------	-------------------------------	---

#### Cryptococcus (KÜTZING).

<i>Cryptococcus degenerans</i> . RONENTI.	Dans un ganglion de l'aisselle chez une femme.	Cellules isolées ou par groupes, arrondies, sans capsule.
---	--	---



# PLANCHE II

- 1 Champignon du muguet *Endomyces albicans* VUILLEMIN) dans une plaque de Muguet (D'après VUILLEMIN).
- 2 Filament portant des globules internes D'après VUILLEMIN).
- 3 Filament dans une fausse membrane de Muguet.
- 4 Asques.
- 5 *Saccharomyces anginae* de TROISIERET ACHALME. Formes levures et ascospores.

<i>C. Gilchristi</i> . VUILL.	Dans un cas de scrofulé dermatite chronique.	Cellules rondes ou ovales de 20 $\mu$ . Capsule disparaissant par la culture.
<i>C. Tokishigei</i> . VUILL.	Produisant le farcin chez les chevaux.	Levure globuleuse, 6,7 à 12,5 sur 12,5 $\mu$ .
<i>C. hominis</i> . BUSSE.	Dans une tumeur tibiale.	Cellules ovoïdes pointues à une extrémité.
<i>Crypt. linguae pilosae</i> LUCET.	Dans la langue noire.	Cellules ovoïdes de 3 à 6. Pas pathogène.
<i>C. Rogeri</i> . SARTORY.	Isolé d'un pus de péritonite par perforation de l'estomac.	Cellules à contours nets, ovoïdes, de 8 à 10 sur 2 à 3 $\mu$ .
<i>C. de CLERC et SARTORY.</i>	Dans la gorge d'un malade au cours d'une angine chronique.	Cellules ovoïdes, 7 à 10 sur 5 $\mu$ .

#### Saccharomyces (MEYEN).

<i>S. tumefaciens</i> . BUSSE.	Dans une tumeur d'apparence, myxomatéuse.	2 formes, une encapsulée de 16 à 20, au total 40, dans cultures, 3 à 6 $\mu$ .
<i>S. Le Monnier</i> . SARTORY, LASSEUR.	Dans les expectorations d'un individu atteint de congestion pulmonaire.	Cellules arrondies mesurant 3,1 à 3,5 $\mu$ . Ascospores 2,5 à 3 $\mu$ .
<i>S. anginae</i> . VUILL.	Dans un cas d'angine rappelant cliniquement le muguet.	Cellules ovoïdes de 8 à 9 $\mu$ .
<i>S. granulatus</i> . VUILL. LEGRAIN.	D'une tuméfaction de la mâchoire inférieure.	Cellules elliptiques de 4 à 5 sur 3,5 à 4 $\mu$ de large.
<i>S. Blanchardi</i> . GUIART.	D'une tumeur péritonéale.	15 à 20 $\mu$ .

#### Saccharomycopsis (SCHÖNNING).

<i>S. guttulatus</i> .	Tube intestinal de certains animaux.	6 à 16 $\mu$ sur 4 à 2 $\mu$ , ovale.
------------------------	--------------------------------------	---------------------------------------

#### Monospora (METCHNIKOFF).

<i>M. cuspidata</i> .	Dans la cavité générale des Daphnies.	Cellules ovales qui s'allongent.
-----------------------	---------------------------------------	----------------------------------

## PÉRISPORIACÉES

Asques enfermés dans une cavité close qui constitue un périthèce indéhiscant.

Cette famille renferme un grand nombre de champignons zoophiles dont le rôle pathogène est des plus importants. On connaît pour beaucoup de ces microorganismes le cycle complet de développement comme pour les *Aspergillus* par exemple. Il en est d'autres comme les *Trichophyton* et l'ensemble des végétaux parasites constituant le groupe si important des Teignes (*Achorion*, *Epidermophyton*, *Lophophyton*) dont on ne connaît que des bribes de leur morphologie et qui ne peuvent être placés dans cette classe que par analogie.

### Genre *Aspergillus* MICHELI 1729.

*Mycélium stérile, ramifié, conidiophores dressés, renflés au sommet par une vésicule qui porte soit directement, soit par l'intermédiaire de petits rameaux souples nommés basides des chapelets de conidies.*

*Périthèces formant de petits grains arrondis et durs au centre desquels se développent des asques ovales à 4 ou 8 spores.*

#### *Aspergillus bronchialis*.

BLUMENTRITT. — Cette moisissure a été rencontrée par CHIARI dans les bronches d'un diabétique et étudiée par BLUMENTRITT en 1901. Le mycélium est blanc jaunâtre; les filaments sont richement ramifiés et nettement segmentés; les articles ne sont pas toujours nettement cylindriques, mais très souvent renflés; ils mesurent en



Fig. 13. *Aspergillus bronchialis* (d'après Langeron).



moyenne 5 à 8  $\mu$  de large. Les filaments aériens sont droits, simples et rarement segmentés. L'appareil conidien mesure 12 à 19  $\mu$  de large et porte de longues chaînes de conidies; les conidies sont rondes, lisses et mesurent 3 à 4  $\mu$  de diamètre, leur coloration est généralement gris verdâtre. Cette espèce est dangereuse à respirer.

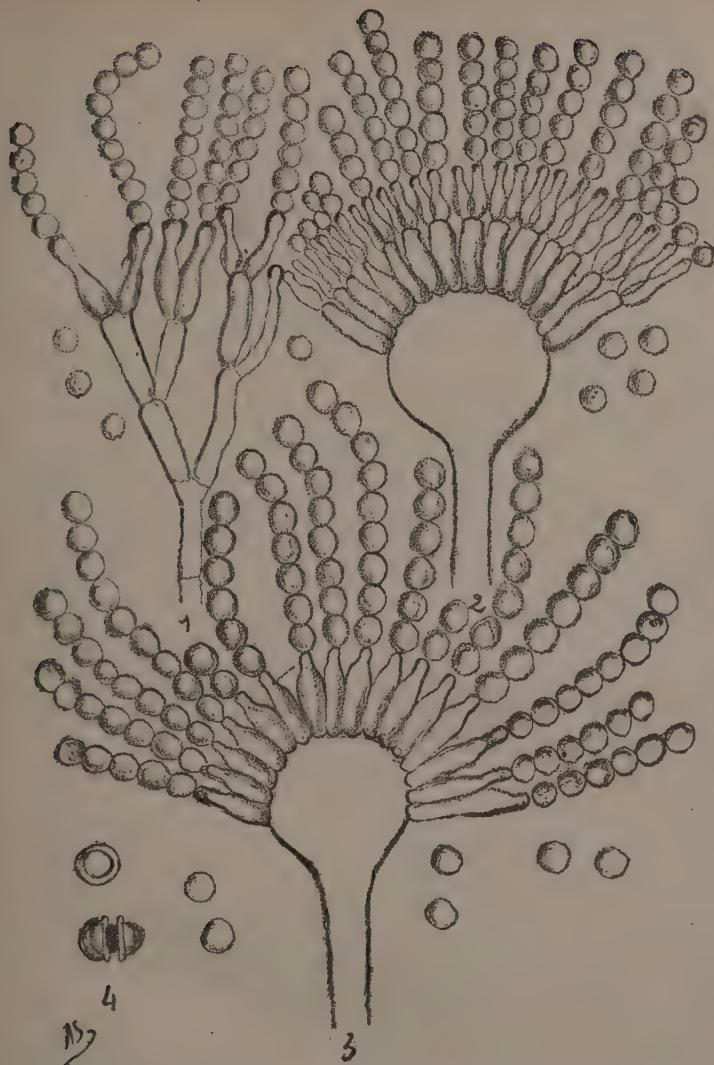
**Aspergillus fumigatus.** FRESENIUS. — L'*Aspergillus fumigatus* a été décrit pour la première fois par FRESENIUS, l'étude a été complétée par WEHMER.

Il est composé d'un mycélium formant un tissu peu serré avec



Fig. 14. *Aspergillus fumigatus* (d'après Langeron).

ampoules intercalaires. Les conidiophores sont dressés, gris fuligineux, plus foncés vers le sommet où ils se renflent graduellement en tête sphéroïdale de 30 à 40  $\mu$ , couverte dans la moitié ou les deux tiers supérieurs de basides, de 6 à 15  $\mu$  (parfois plus courtes au voisinage du sommet). Les conidies sont rondes ou elliptiques de 3 à 5  $\mu$  bronzées. Les *périthèces* ne sont pas connus. Quoique signalés par BEHRENS sur des feuilles de tabac, nous estimons que l'auteur a du faire erreur. Il existe en effet un autre *Aspergillus* très voisin, *Aspergillus fumigatoïdes*



### PLANCHE III

Planche montrant les différences entre *Penicillium*, *Aspergillus* et *Sterigmatocystis*.

- 1 *Penicillium* (Appareils reproducteurs conidiens).
- 2 *Sterigmatocystis* (Appareils conidiens).
- 3 *Aspergillus* (Appareils conidiens).
- 4 Asque (provenant d'un périthèce d'*Aspergillus*).

BAINIER-SARTORY qui donne des périthèces mais ce n'est pas l'*Aspergillus fumigatus*, Fr. SIEBENMANN n'a décrit dans cette espèce que des sclérotés de 15 à 25  $\mu$ .

L'*Aspergillus fumigatus* existe à l'état saprophytique sur beaucoup de produits végétaux (foin, paille, céréales). Il est l'agent de la pseudo-tuberculose pulmonaire de l'homme et principalement des gaveurs de pigeons et des peigneurs de cheveux qui contracteraient la maladie en manipulant les grains de chanvre et de farine de maïs fréquemment souillés de conidies d'*Aspergillus*.

**Aspergillus fumigatoïdes.** BAINIER et SARTORY. — L'*Aspergillus fumigatoïdes* se rapproche de l'*Aspergillus fumigatus* FRES. Toutefois il en diffère par certains caractères d'ordre morphologique et biologique. Ce champignon possède un support conidifère court de 150 à 310  $\mu$ , le pied est assez souvent tortueux, non cloisonné, légèrement et progressivement renflé de bas en haut, l'épaisseur à la base de 5 à 6  $\mu$ . La largeur de la tête est de 30 à 35  $\mu$ . Les stérigmates ont de 8 à 14  $\mu$  de longueur, ne garnissent tantôt que le haut du renflement en massue, tantôt au contraire garnissent presque complètement le renflement. Ces stérigmates sont incolores; les conidies prennent la teinte olivâtre sombre, elles sont ovales, petites, mesurent de 2 à 3  $\mu$  sur 2  $\mu$  de large. Cet *Aspergillus* donne sur tous les milieux des périthèces. Dimensions des périthèces de 65 à 92  $\mu$ , ils sont très nombreux. Asques sphériques ou ovales de 20 à 26  $\mu$  de long sur 12 à 18  $\mu$  de large. Le nombre des ascospores est le plus souvent de huit, quelquefois mais très rarement de 4, 5, 6 ou 7. Les ascospores sont sphériques, échinulées, de dimensions moyennes entre 3  $\mu$  et 3  $\mu$  5.

Il pousse fort bien sur *pomme de terre ordinaire*, *acide*, *glycériné* en donnant un mycélium olivâtre, puis des périthèces blanches jaunâtres. Il liquéfie la *gélatine* vers le douzième jour. L'*albumine d'œuf* n'est pas attaquée. Le lait est coagulé vers le 15<sup>e</sup> jour, le 18<sup>e</sup> jour il est transformé en un liquide légèrement visqueux et opalescent. Un cube de *caséine* soumis à son action est délité en donnant un liquide trouble. Le *saccharose*, le *maltose* sont dédoublés. Il n'attaque ni le *lactose*, ni le *glucose*.

L'*empois d'amidon* est liquéfié avec production de sucre réducteur.

*Pathogène pour le lapin.* Le sérum de l'animal agglutine au

1/100<sup>e</sup> les spores d'*Aspergillus fumigatoïdes* et n'agglutine pas les spores d'*Aspergillus fumigatus*.

Différences existantes entre *A. fumigatus* et *A. fumigatoïdes*.

<i>A. fumigatus</i> Eres:	<i>A. fumigatoïdes</i> , BAINIER et SARTORY.
Couleur des cultures sur Raulin gélatiné (373 code des couleurs) 4 <sup>e</sup> jour.	Couleur des cultures sur Raulin gélatiné (352 code des couleurs) 4 <sup>e</sup> jour.
Majorité des conidies rondes.	Majorité des conidies ovales.
Optimum de croissance 37-38°.	Optimum de croissance 37-38°.
Couleur des cultures sur pomme de terre le 30 <sup>e</sup> jour (363 code des couleurs).	Couleur des cultures sur pomme de terre le 30 <sup>e</sup> jour (368 code couleurs).
Absence des périthèces sur tous les milieux.	Présence constante des périthèces.
Température critique + 50°.	Température critique 48-49°.
Ferments secrétés. Casease, invertine, maltose et amylase.	Pathogène mais moins virulent.
Pathogène pour le lapin et le cobaye.	

**Aspergillus Fontoyonti.** GUEGUEN 1909. — Sous le nom de nodosités juxta-articulaires, JEANSELME a décrit une affection nodulaire sous-cutanée assez répandue en Indo-Chine et que FONTOYNONT a retrouvé à Madagascar. Elle paraît être causée par l'*Aspergillus Fontoyonti*.

Diagnose de l'*Aspergillus Fontoyonti*. Espèce petite environ (150-200  $\mu$ ). Conidiophore excipuliforme subcontinu, de 14-18 de diamètre, à pôle supérieur recouvert de basides en quille de 8 à 12  $\times$  2, donnant des files de 10 à 30 conidies glauques, ovales, arrondies de 4,5, 6  $\times$  3, 4 à 5  $\mu$ , plus ou moins semées de verrues fines. Conidies agminées en courts panaches, flammiformes, rarement cylindriques. Optimum cultural entre + 22 et + 25.

Les essais d'infection tentés sur divers animaux de laboratoire n'ont donné aucun résultat positif.

#### Principaux *Aspergillus* pathogènes

*Aspergillus bronchialis* BLUMENTRITT 1901.

*Aspergillus fumigatus* FRESENIUS 1775.

*Aspergillus fumigatus* race n° 1 de COSTANTIN et LUCET.

*Aspergillus syncephalis* de Gueguen 1904.

*Aspergillus Lignieresii* COSTANTIN et LUCET.

*Aspergillus virido-griseus* COSTANTIN et LUCET.

*Aspergillus malignus* LINDT 1889.

*Aspergillus maydis* QUEVEDO 1912.

*Aspergillus fumigatoïdes* BAINIER et SARTORY.

*Aspergillus micro-virido citrinus* COSTANTIN et LUCET 1905.

*Aspergillus oryzae* BÜGSEN 1885.

*Aspergillus oryzae* var. *basideferens* COSTANTIN et LUCET.

*Aspergillus Fonloynonti* GUEGUEN 1909.

*Aspergillus Bouffardi* 1906 BRUMPT.

*Aspergillus* des Caratés.

### **Genre *Stérigmatocystis*. CRAMER 1869.**

*Mycélium rampant cloisonné. Conidiophores terminés par une vésicule ovoïde sphérique ou rarement piriforme, couverts d'articles cylindriques ou basides surmontés chacun de deux ou plusieurs rameaux plus petits nommés stérigmates et produisant chacun une chaînette de conidies.*

**Stérigmatocystis nidulans.** EIDAM. — Coussinets confluent, d'un jaune verdâtre, de plus en plus verdoyant. Mycélium incolore, de 2  $\mu$ . Conidiophores dressés simples, bi ou trifurqués, incolores, puis brunâtres, peu cloisonnés, faiblement dilatés au sommet en un cône renversé à base un peu convexe surmontée de basides de 12 sur 4  $\mu$  environ; couronnés de deux à quatre stérigmates obelavulés, de 6 sur 3, émettant des conidies globuleuses, finement ponctuées, glaucescentes, de 3  $\mu$ , groupés, immergés dans la profondeur du mycélium, ponctués de 200 à 300  $\mu$ , et formés d'un pseudo-parenchyme dense, parsemé d'asques ovoïdes, octospores de 10 à 11  $\mu$ , murissant successivement. Ascospores en forme de lentilles biconvexes, aplaties, lisses, brun pourpre, de 5 = 4  $\mu$ .

Trouvé par EIDAM (1883) dans des nids de bourdons au jardin botanique de Breslau. Pathogène pour les animaux. SIEBENMANN l'a observé dans deux cas d'otomycoses et lui rapporte les organes décrits par WREDEN (1874) et SWANN BURNETT 1882 sous le nom d'*Otomyces purpureus*.

A. HEIDER, en 1890 ayant injecté des ascospores dans les veines d'un lapin a trouvé au bout de six jours des amas mycéliens dans les vaisseaux de cet animal ainsi que des spores en germination dans le foie et les poumons.

Le *Stérigmatocystis versicolor* trouvé par Mlle B. MIRSKY (1)





Fig. 15. *Sterigmatocystis nidulans* d'après Langeron .



Fig. 16. *Sterigmatocystis nidulans* d'après Langeron et Brumpt .

(1908) dans les crachats d'un tuberculeux paraît être une forme du *Sterigmatocystis nidulans*.



Fig. 17. *Sterigmatocystis nidulans* végétant à l'intérieur des tissus (d'après Pinoy et Brumpt).

#### Principaux *Sterigmatocystis* pathogènes.

*Sterigmatocystis nidulans* EIDAM 1883.

*Sterigmatocystis fuscus* BAINIER 1880.

*Sterigmatocystis lutea* BAINIER.

#### PENICILLIUM. LINK 1809.

*Mycélium* cloisonné souvent feutré, conidiophores dressés coupés de cloisons transversales, ramifiés terminalement à un ou plusieurs degrés et dont les ultimes rameaux verticillés, ou basides, portent des chainettes de conidies. Perithèces analogues à ceux des *Aspergillus*.

*Penicillium brevicaule* var. *hominis* BRUMPT et LANGERON



1910). — Champignon isolé deux fois par BRUMPT et LANGERON dans deux cas d'onychomycose durant depuis plusieurs années et affectant l'un l'ongle du gros orteil droit, l'autre celui du second orteil droit. *In situ*. Dans l'épaisseur des ongles attequés le parasite forme un amas de filaments mycéliens mis en évidence au

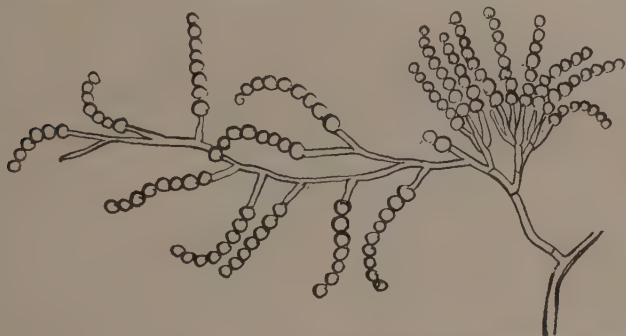


Fig. 18. *Penicillium brevicaule* var. *hominis* Scopulariopsis *hominis*, (d'après Brumpt).

moyen de la potasse à 40 p. 100. Ils mesurent 2 à 10  $\mu$  de large, ils sont fragiles et entremêlés de chlamydospores terminales ou intercalaires de 10 à 30  $\mu$  et à des conidies. Culture sur les milieux usuels (carotte, pomme de terre, etc.). Optimum cultural + 25°.

#### Principaux *Penicillium* pathogènes.

*Penicillium brevicaule* var. *hominis* BRUMPT et LANGERON.  
*Penicillium pictor* NEVEU-LEMAIRE

## CHAPITRE XVI

### PARASITE DU TOKELAU

Lepidophyton. TRIBONDEAU 1899. — Syn : *Trichophyton concentricum*. R. BLANCHARD 1895.

Le Tokelau est une dermatomycose originaire de l'Archipel Malais et qui s'est étendue en marchant constamment vers l'est aux îles de l'Océanie orientale.

Cette affection décrite par Manson sous le nom de teigne imbriquée (*Tinea imbricata*) a fait l'objet d'une excellente étude de TRIBONDEAU qui a donné le nom de *Lepidophyton* au parasite. C'est une espèce d'aspergillus. Tandis que TRIBONDEAU et JEANSELME n'avaient rencontré dans le parasite du Tokelau que des formes aspergilloïde WEHMER a trouvé des formes aspergillus très bien constituées qui lui ont permis d'établir définitivement l'espèce.

*Aspergillus lepidophyton*. WEHMER. — Le mycélium très délicat 1 à 2  $\mu$  d'épaisseur, cloisonné, est incolore. Les filaments conidifères portent des têtes d'un jaune brunâtre mesurant les petits exemplaires 8-12  $\mu$  et les plus gros




Fig. 19. Parasite du Tokelau. Filaments myceliens et fructification du type aspergillaire (d'après Tribondeau).

30  $\mu$  et même 100  $\mu$ . Le renflement terminal varie de 5 à 30  $\mu$ . Les stérigmates non divisés mesurent de 5 à 9  $\mu \times 2$  à 3  $\mu$ . Les

conidies ont de 3 à 13  $\mu$ , jaunâtres elles sont recouvertes d'épines. La culture n'a pu être obtenue.

### PARASITE DES CARATÉS

Les dermatoses de l'Amérique centrale et tropicale connues sous le nom de Caratés sont encore bien peu connues et incomplètement étudiées. DARIER et BODIN ont observé un trichophyton qui se cultive facilement. Dans les Caratés de Colombie, Montoya y Florez a décrit divers végétaux appartenant aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Monilia* (Voir tableau page 150).

#### *Aspergillus* des caratés.

*Aspergillus pictor*. R. BLANCHARD 1895. — Syn : *Trichophyton pictor*. *Penicillium pictor*. N. LEMAIRE. — Espèces normales indéterminées auxquelles on rapporte les Caratés périspériques.

D'après MONTOKYA on observe de longs filaments mycéliens disposés en réseau et ramifiés dichotomiquement. Certains rameaux portent des fructifications ayant tantôt l'aspect de tête d'asper-

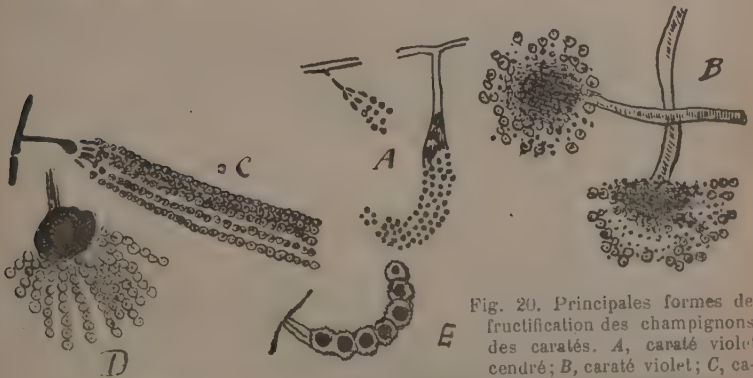


Fig. 20. Principales formes de fructification des champignons des caratés. A, caraté violet cendré; B, caraté violet; C, caraté violet bleuâtre; D, caraté bleu; E, caraté blanc d'après Montoya.

gillus (Caratés bleus et Caratés rouges), tantôt l'aspect de penicillium (Caratés noirs); quelquefois un aspect intermédiaire. Ces fructifications sont rares ou absentes dans les cas récents ou très anciens de Caratés.

**Culture.** — D'après MONTROYA les parasites des Caratés se cultivent aisément sur le milieu de Raulin, sur pomme de terre, gélose, peptone glycinée à 4 p. 100 et gélose moût de bière. En culture les champignons prennent une teinte qui concorde généralement avec celle des aspects cliniques dont ils proviennent et montrent les mêmes fructifications que dans les squames. Optimum cultural + 30 et 40°.

**Pouvoir pathogène.** — Auraient été inoculés avec succès à des Mulâtres et au lapin par Montoya.

#### Champignons des Caratés.

ESPÈCES	COUTEURS	PARASITES
Caratés à <i>Aspergillus</i>	bleus, violets purs, violets bleuâtres, rouges	<i>Aspergillus pictor</i>
Caratés à <i>Penicillium</i>	violet cendré	<i>Penicillium pictor</i>
Caratés à <i>Monilia</i>	blanc	<i>Monilia?</i> <i>pictor</i>
Caratés à <i>Gymnoascées</i>	encre de chine	<i>Microsporum</i> (?)

#### *Genre Madurella.* BRUMPT, 1905 emend 1912.

Mucédinée à thalle blanc, vivant en parasites dans divers tissus animaux (os, muscles, tissu conjonctif) possédant dans la vie végétative des filaments d'un diamètre toujours supérieur à 1  $\mu$  et pouvant atteindre 8 à 10  $\mu$ . Ces filaments sont cloisonnés et se ramifient de temps à autre; ils secrètent une substance brune. En vieillissant ces filaments s'organisent en sclérote et leur paroi s'imprègne quelquefois de pigment brun. Dans ce sclérote se rencontrent en quantité variable des corpuscules arrondis de 8 à 30  $\mu$  de diamètre (chlamydospores) BRUMPT.

***Madurella mycetomi.*** LAVERAN, 1902. — Syn : *Streptothrix mycetomi*. LAVERAN, 1902.

***Madurella mycetomi.*** BRUMPT, 1905. — Mycelium blanc grisâtre, jaunissant en vieillissant, noircissant les milieux de culture sucrés. Oïdies de dimensions variables, depuis 2  $\mu$  jusqu'à 5  $\mu$ . Sclérotés noirs stériles, d'un demi à un millimètre de

diamètre, formés à l'intérieur du milieu de culture. A l'état parasitaire ce champignon peut envahir chez l'homme le derme, les os, les muscles, le tissu conjonctif donnant le mycetome à grains



Fig. 21. *Madurella mycetomi* d'après Brumpt.

noirs; les grains sont petits, durs, arrondis, plus ou moins verruqueux, de morphologie assez semblable à celle des sclérotés formés dans les cultures. Inoculations aux animaux jusqu'ici négatives (Pinoy).

**Madurella Bovoï.** BRUMPT 1910. — Cette espèce n'a pas été cultivée. Il a été observé par PAOLO BOVO dans des nodules noirs du volume d'un grain de millet ou d'un pois qui siégeaient au nombre d'une quinzaine sur le pied droit d'un homme de 74 ans, ainsi que dans un ganglion crural hypertrophié.

PAOLO BOVO en examinant au microscope ce champignon vit un feutrage noir formé par des hyphes mycéliennes et des spores facilement décelables dans les coupes par le traitement à la potasse caustique.

Il pense que cet organisme est peut-être *Aspergillus fumigatus* ou *Aspergillus niger*. BRUMPT le range provisoirement dans le genre *Madurella*.

**Madurella Tozeuri.** CH. NICOLLE et PINOY, 1908. Syn : *Oospora Tozeuri*. CH. NICOLLE et PINOY, 1908. — Mycélium blanc, devenant jaunâtre en vieillissant, amenant le noircissement des milieux de culture sucrés oïdies généralement petites ( $2\ \mu$  parfois jusqu'à  $5\ \mu$ ). Assez rarement ébauche de sclérotés sur la surface du milieu de culture. Occasionnant chez l'homme un mycétome où l'on constate des grains noirs de structure amorphe, ces grains étant constitués le plus souvent par une boucle mycélienne, renfermant des éléments cellulaires dégénérés, imprégnés du pigment du champignon et de petites masses diffuses uniquement constituées par des filaments du champignon dont la membrane est jaune. Inoculation positive au pigeon (PINOY).

Rencontrée dans un cas de mycétome à grains noirs, d'évolution très lente et datant de 18 ans par CH. NICOLLE et PINOY.

### **Genre *Indiella*. BRUMPT. 1906.**

Mucédinées non encore cultivées, à thalle blanc, vivant en parasite dans divers tissus animaux (os, muscles, tissu conjonctif, possédant dans leur vie végétative des filaments de dimensions variant de  $1\ \mu$  à  $5$  et  $10\ \mu$ . Ces filaments sont cloisonnés et se ramifient de temps à autre latéralement, ils ne sécrètent jamais de matière pigmentaire. Ces filaments forment toujours en se réunissant, des grains, comparables quelquefois à des sclérotés, qui caractérisent les différentes espèces du genre. Dans ces grains se rencontrent, en nombre plus ou moins considérable, des chlamydospores, le plus souvent terminales.

**Indiella Mansoni.** BRUMPT. 1906. — Description : Mucédinée connue seulement à l'état de parasite chez l'homme. Mycélium blanc, assez grêle quand il est jeune et mesurant alors de  $1\ \mu$  à  $2\ \mu$ , pourvu de cloisons distantes de  $15$  à  $20\ \mu$ . Les filaments âgés deviennent irréguliers, mesurent de  $3$  à  $5\ \mu$  de diamètre et sont pourvus de cloisons distantes de  $5$  à  $10\ \mu$  seulement. Les filaments montrent un grand nombre de chlamydospores terminales rarement intercalaires de  $5$  à  $12\ \mu$  de diamètre, généralement sphériques et unicellulaires quelquefois, mais rarement segmentées. Les grains ou sclérotés formés dans les tissus sont très petits, aplatis, d'un diamètre variant d'un cinquième à un quart de millimètre. Ces grains sont souvent parasités par une bactérie. (BRUMPT).



**Indiella Reynieri.** BRUMPT, 1906. — Mucédinée à thalle blanc, vivant en parasite chez l'homme. Le mycélium jeune est grêle, d'un diamètre de  $1\ \mu$  à  $1\ \mu\ 5$ , les cloisons sont distantes de 10 à 15  $\mu$ . Les filaments périphériques irréguliers, ou moniliformes, acquièrent un diamètre de 4 à 5  $\mu$  et les cloisons sont plus rapprochées que dans des filaments centraux. Les filaments se ter-

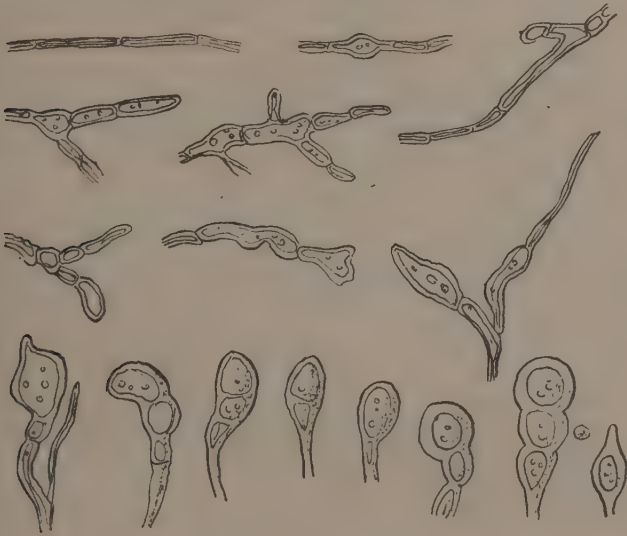


Fig. 22. *Indiella Reynieri* (d'après Brumpt.). Un aspect du parasite.

minent presque tous à la périphérie par une chlamydospore, souvent divisée en deux ou trois loges, d'un diamètre variant de 5 à 20  $\mu$ . Les chlamydospores intercalaires sont plus rares. Les filaments restent toujours accolés les uns aux autres et forment un grain ou sclérote tout à fait caractéristique, arrondi quand il est jeune, il se transforme en vieillissant en un cordon enroulé, ressemblant à des excréments de ver de terre, les dimensions de ce grain ne dépassent pas un millimètre de diamètre (BRUMPT).

## CHAPITRE XVII

### *Genre Trichophyton.* MALMSTEN, 1848.

Fruits conidiens (pycnides) sphériques d'un blanc crémeux disséminés çà et là sous un feutrage blanc de neige. Paroi du fruit formée d'hyphes cloisonnées, ramifiées, enchevêtrées en un faux tissu lâche; ornée de tortillons spiralés et de crosses ramifiées terminant certains filaments. Masse centrale sporifère formée de bouquets conidiens très ramifiés portant de nombreuses spores latérales ou terminales, solitaires ou en chapelets cubiques arrondies, incolores.

Forme conidienne divisée ou condensée en bouquets conidiens non protégés par une enveloppe, spores (chlamydospores) solitaires naissant soit latéralement sur le mycélium rampant (chlamydospores latérales), soit sur le trajet même des filaments chlamydospores intercalaires).

### Les *Trichophytos*.

Les *Trichophytos* sont des parasites spécifiques des dermatomycoses que l'on appelle généralement *trichophyties*. SABOURAUD divise ces organismes en deux grands groupes :

- 1° Les *Trichophytos humains* qui vivent sur l'espèce humaine.
- 2° Les *Trichophytos animaux* qui s'attaquent aux animaux domestiques. Les champignons de ce dernier groupe peuvent toutefois s'inoculer accidentellement à l'homme.

CARACTÈRE DE CES CHAMPIGNONS DANS LA VIE PARASITAIRE. — Si nous examinons des cheveux ou des poils parasités, le champignon est formé de filaments constitués par de courts segments sensiblement aussi longs que larges. Ils ont une double paroi et prennent le nom de spores mycéliennes. Leur forme varie et peut

adopter la forme ronde ou ovale, le filament prend alors l'aspect moniliforme, sorte de chapelet ou chaînette de spores facilement dissociables (fragile).

Parfois ces spores sont carrées et les segments restent soudés entre eux sur une grande longueur (résistant). SABOURAUD ramène les rapports précis du champignon sur le poil ou le cheveu à l'un des trois cas suivants :

1° Si le parasite est entièrement inclus dans le cheveu, sans dépasser la cuticule, le trichophyton rentrera dans la catégorie des

*Tr. endothrix pur.*

2° Si le parasite est à la fois interne et périphérique, le Trichophyton sera du type

*Tr. néo endothrix.*

3° Si il végète dans l'intérieur du cheveu et au-dessus de la cuticule, il sera du type

*Tr. endo-ectothrix.*

Les deux premiers types renferment les espèces adaptées à l'homme. On les divise en :

Trichophytons à spores rondes et à mycélium fragile.

— — — carrées — résistant

Les groupes des endo-ectothrix renferment les espèces transmises par les animaux à l'homme.

*Cultures.* — C'est à SABOURAUD, MATRUCHOT, BODIN, DASSONVILLE que nous devons les documents les plus précis concernant l'évolution culturale de ces champignons. Nous ne rentrerons pas ici dans les détails car nous trouverons dans le magnifique ouvrage de Sabouraud tous les renseignements nécessaires à l'étude de ces organismes. Disons cependant que ces champignons possèdent des filaments larges de  $2\ \mu$  5 à  $3\ \mu$  et formés d'articles de 5 à  $20\ \mu$ , ils possèdent une paroi à double contour, le protoplasme est homogène. Bientôt apparaissent les appareils reproducteurs qui peuvent être :

1° Des conidies, 2° des chlamydo-spores (1), 3° des fuseaux multiloculés (2), 4° des vrilles (3). Les conidies sont le plus sou-

1. Formes de souffrance apparaissant quand la culture est trop vieille.

2. Ce sont des formations généralement ovoïdes dont l'intérieur est divisé en logettes par des cloisons transversales. Elles mesurent 30 à  $40\ \mu$  de long, sur 13 à  $15\ \mu$  de large, elles peuvent être terminales ou latérales.

3. D'après Matruchot et Dassonville ces vrilles ou crosses ne seraient que des ornements des perithèces avortés.

vent ovoïdes, elles mesurent 3 à 4  $\mu$  de long sur 2 à 3  $\mu$  de large et se forment surtout sur les parties latérales du filament ou encore à l'extrémité des kystes fertiles.

Suivant leur groupement les conidies affectent des dispositions en thyrses ou en grappe composée (type *Botrytis*). Plus rare est le groupe en buisson conidien.

*Pouvoir pathogène.* — Les *Trichophyton* endothrix s'inoculent difficilement. L'inoculation réussit mieux si l'on a soin de brûler le tissu superficiellement.

Les *Trichophyton* ectothrix sont pyogènes pour l'homme et plus à craindre que les précédents.

**Trichophyton endothrix parasites de l'homme,**  
d'après R. SABOURAUD.

Endothrix purs	{	Trichophyton	cratériforme	Sabouraud	1902	France.
		—	acuminatum	—	—	—
		—	violaceum	—	—	Méditerranée.
		—	soudanense	Joyeux	1912	Ile-Guinée, Sénégal
		—	effractum	Sabouraud	1909	France.
		—	fumatum	—	—	Italie.
		—	umbilicatum	—	—	France.
		—	regulare	—	—	—
		—	pilosum	—	—	—
		—	glabrum	—	—	Russie.
		—	sulphureum	C. Fox	1908	Angleterre.
		—	polygonum	Uriburu	1909	Rép. Argentine.
Néo- endothrix	{	Trichophyton	flavum	Bodin	1902	France.
		—	plicatile	Sabouraud	1909	France, Danemark.
		—	circumvolotum	Sabouraud	—	Dahomey.

**Trichophyton tonsurans**, MALMSTEN 1845, Syn : *Tr. cratériforme* SABOURAUD 1902. — Les filaments mycéliens de cette teigne endothrix sont formés de spores agminées en chaîne sensiblement carrées et mesurant 4 à 5  $\mu$  de long. Les filaments quelquefois un peu ondulés, souvent droits remplissent complètement le cheveu et se dessinent très difficilement.

Le mycélium est dit *résistant*.

*Cultures.* — Sur milieu d'épreuve SABOURAUD, la culture débute par une minuscule houppes à poudre de riz puis s'étend par ses bords de façon à former un petit gateau blanc, d'aspect velouté dont la partie centrale se colore en jaune et se creuse en cupule pendant que les bords tendent à se relever. La cul-

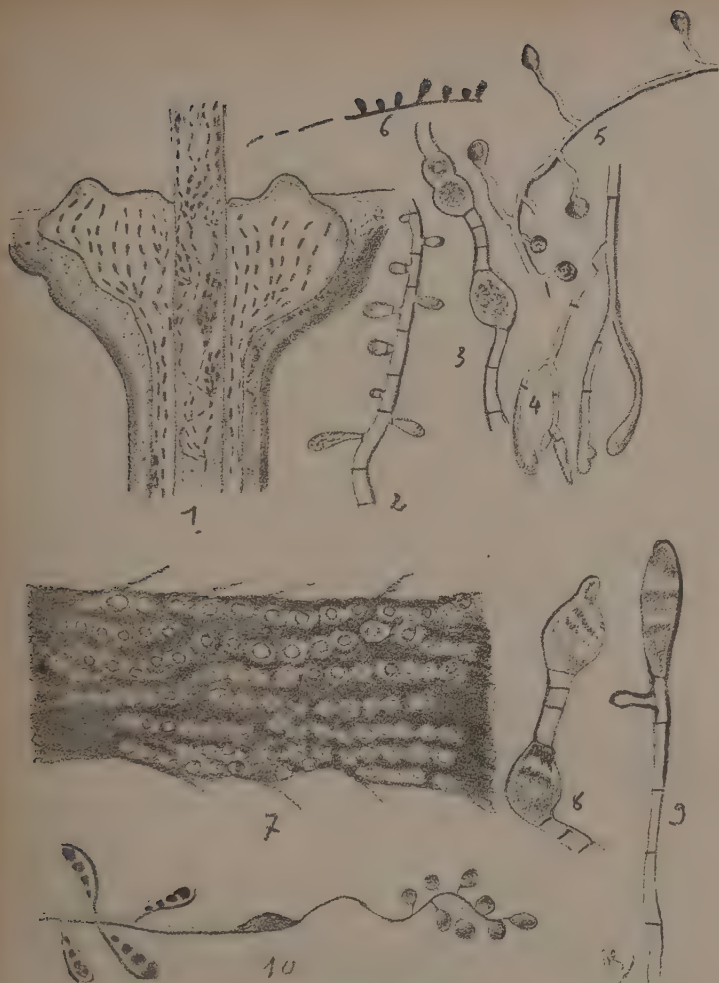


PLANCHE IV

**Champignons des Teignes.**

- 1 Coupe verticale du cuir chevelu passant par le centre d'un cheveu et d'un godet favique; tarsi faviques dans le cheveu (D'après SABOURAUD).
- 2 4 6 Formes pouvant être observées à l'examen microscopique d'une culture d'Achorion.
- 2 Filaments aériens porteurs de conidies.
- 3 Chlamydospores.
- 4 Chandelier favique.
- 6 Organe pectiné.
- 7 *Trichophyton tonsurans* (var. *endothrix*). Cheveu de teigne tondante trichophytique à grosses spores.
- 8 Chlamydospores de *Trichophyton*.
- 9 Fuseaux multiloculés.
- 10 Filaments aériens portant des conidies (D'après SABOURAUD).

ture devient poudreuse et affecte la forme d'un bouton, puis d'un cratère qui souvent est fort régulier et montre fréquemment une petite saillie centrale.

Examiné au microscope ce parasite montre des groupes de spores plus tassées et forment de véritables grappes. Les spores externes varient en dimensions du simple au double, quelques-unes sont remplacées par des chlamydospores à éperons.

Chez cette espèce le développement du thyrsé sporifère prend la forme d'une grappe compliquée. Le *Trichophyton* cratériforme est doué d'un pléomorphisme assez accentué.

Provoque la teigne tondante à grosses spores qui est caractérisée par la persistance sur la plaque malade de cheveux sains très nombreux, entre lesquels on observe de petits points noirs ressemblant à des grains de poudre. *Tondantes à grosses spores et tondantes à petites plaques sont synonymes*. A côté du *Trichophyton* tonsurans var. *endothrix* typique, on doit signaler deux autres *Trichophyton* *endothrix* qui ont été rencontrés

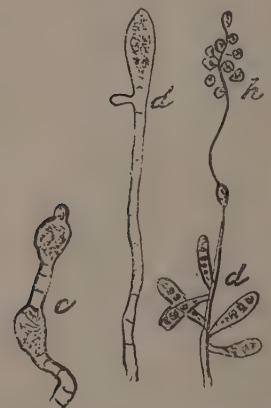


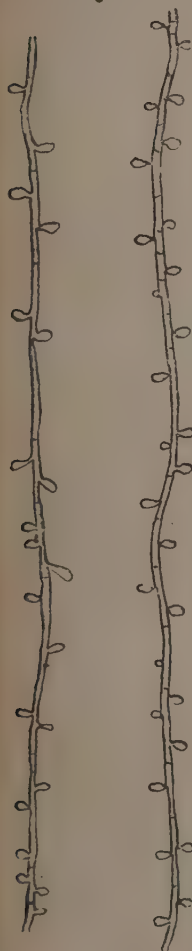
Fig. 23. Formes pouvant être observées à l'examen microscopique d'une culture de *Trichophyton*. c, chlamydospores; d, faisceaux multiloculés; h, filament aérien portant les conidies (d'après Guiart et Grimbert).

eux aussi chez l'homme et s'en distinguant par leurs cultures. Ce sont les *Trichophyton Sabouraudi* dont la culture forme un monticule saillant aux incisures radiées et le *Trichophyton violaceum*.

Le *Trichophyton violaceum* Bodin 1902, a été isolé par SABOURAUD dans certains cas de Trichophytie sèche de la barbe et du cuir chevelu. Fréquent en Italie, au Sénégal et au Brésil. La culture présente le même aspect, mais devient violet aubergine au bout de 3 semaines. Ces différents *endothrix* sont la cause principale de la teigne trichophytique. On les observe dans 80 p. 100 des cas et on doit les considérer comme particuliers à l'enfant.



**Trichophytons ectothrix parasites de l'homme,**  
d'après R. SABOURAUD.



Ectothrix microïdes	Groupe du T. gypseum	T. asteroïdes	Sabouraud	1909	France.
		T. radiolatum	—	1910	—
		T. lacticolor	—	—	—
		T. granulosum	—	1908	Italie.
		T. farinulentum	—	1910	France.
		T. persicolor	—	—	—
Ectothrix mégaspores	Groupe du T. niveum	T. radians	—	1949	—
		T. denticulatum	—	1910	—
	T. à cultures duveteuses	T. equinum	Gedöelst	1902	France.
		T. rosaceum	Sabouraud	—	Fr., Ital.
		T. vinosum	—	1910	—
		T. ochraceum	—	1909	—
		T. album	—	—	Italie.
	T. à cultures faviformes	T. discoides	—	—	France.
		T. verrucosum	Bodin	—	—

Parmi les Trichophytons ectothrix d'origine animale nous ne ferons que signaler le *Trichophyton mentagrophytes*, le *Trichophyton depilans* et le *Trichophyton equinum* du cheval; le *Trichophyton verrucosum* de l'âne; le *Trichophyton caninum* du chien; le *Trichophyton felinum* du chat et enfin le *Trichophyton Megnigni* de la poule. Ces ectothrix donnent en général des cultures étoilées couvertes d'une poussière blanche semblable à du plâtre. Elles sont variables pour chaque espèce.

**Microsporum (petite spore).**

**Genre *Microsporum*, GRUBY 1843.**

A côté des Trichophytons qui sont susceptibles de produire des tondantes il faut placer une série très importante de tondantes causées par les Microsporum. Les affections qu'ils déterminent s'appellent Microspories. SABOURAUD qui a fort bien étudié cliniquement et mycologiquement les lésions déterminées les partage en deux groupes :

1° Microspories spéciales à l'homme ne se transmettant qu'à l'homme.

2° Microspories animales adaptées à certains animaux et se transmettant accidentellement à l'homme.

Fig. 24. Duvet pléomorphique d'un Trichophyton du cheval, grappe simple. *Acladium* (d'après Sabouraud).

A envisager la pluralité des *Microsporum* il en existe deux types; 1° les *microsporum* à cultures moyennes ou petites, du type humain et les *microsporum* à culture vivace, du type animal.

### MICROSPORUM PARASITES DE L'HOMME

*Microsporum* Audouini (Gruby 1844. SABOURAUD 1892).

*Microsporum* velveticum (SABOURAUD 1907).

*Microsporum* umbonatum (SABOURAUD 1907).

*Microsporum* tardum (SABOURAUD 1907).

*Microsporum* equinum (BODIN 1898, intermédiaire aux espèces de type humain et de type animal.

*Microsporum* canis vel lanosum (BODIN 1897, SABOURAUD 1907).

*Microsporum* felineum (C. FOX et BLAXALL 1896).

*Microsporum* fulvum URIBURU de Buenos-Ayres, 1907).

*Microsporum* villosum (Minne de Gand, 1908).

*Microsporum* pubescens (New-York, SABOURAUD).

*Microsporum* flavescens HORTA.

*Microsporum* tomentosum (Sassari) Pelagetti 1909.

### Statistique de Sabouraud à Paris en 1910.

MICROSPORIES	Cuir chevelu	Barbe	Des ongles	Herpès circiné	Total
<i>Microsporum</i> Audouini.	132	0	0	0	132
<i>Microsporum</i> umbonatum	2	0	0	0	2
<i>Microsporum</i> tardum	13	0	0	0	13
<i>Microsporum</i> lanosum.	12	1	0	2	15
					162

*Caractères des microsporum dans leur vie parasitaire.* — Au microscope le cheveu malade est recouvert et même dépassé sur ses bords par une quantité énorme de spores de 2 à 3  $\mu$  de diamètre, tassées les unes contre les autres, polyédriques par pression réciproque et muni d'une double membrane de manière à former une véritable gaine ne pénétrant jamais à l'intérieur du cheveu.

On constate dans la partie interne du cheveu un assez grand nombre de filaments d'un diamètre égal à celui des spores,

dirigés dans le sens de la longueur du poil et se multipliant de haut en bas par dichotomie.

**Microsporum Audouini.** GRUBY, 1843. — Parasite produisant la teigne de GRUBY ou teigne tondante à petites spores. C'est de toute les teignes la plus dangereuse et la plus rebelle. Les cheveux atteints sont fragiles et on peut en enlever 10 ou 15 en une seule pincée sans aucune douleur pour l'enfant. *Tondantes à petites spores et tondantes à grandes plaques sont synonymes.*

*Examen sur le cheveu.* — L'examen microscopique dans la potasse montre que l'étui blanchâtre qui entoure la base du cheveu, est constitué par de petites spores brillantes polyédriques plus petites que celles du Trichophyton ectothrix et non disposées en filaments réguliers, mais agglomérées sans ordre comme les pierres d'une mosaïque.

*Cultures.* — Il se cultive aisément sur tous les milieux usuels. Très souvent il pousse sous forme d'une touffe de fin duvet blanc, autour de laquelle se développent des cercles concentriques alternativement duveteux et glabres mais parfois aussi on observe des plis rayonnants autour d'une petite élevure centrale.

L'examen microscopique révèle l'existence du type *Acladium*; nombreux sont les chlamydospores et les fuseaux septés.

Pas inoculable aux animaux.

#### ACHORION. RÉMAK.

**Achorion Schönleini** (1). — Les Achorions provoquent chez l'homme et chez les animaux des dermatomycoses qui sont le plus généralement désignées sous le vocable *favus* ou *teignes favieuses*.

L'aspect particulier des lésions produites par ces champignons (godet favique) et leur processus de végétation dans les téguments et les poils permettent de différencier assez vite et sûrement les parasites.

La teigne favieuse ou favus est une maladie des campagnes

---

1 Pour plus de détails voir Sabouraud. Les teignes. — Nous avons d'ailleurs emprunté à cet auteur les renseignements résumés dans ce chapitre.

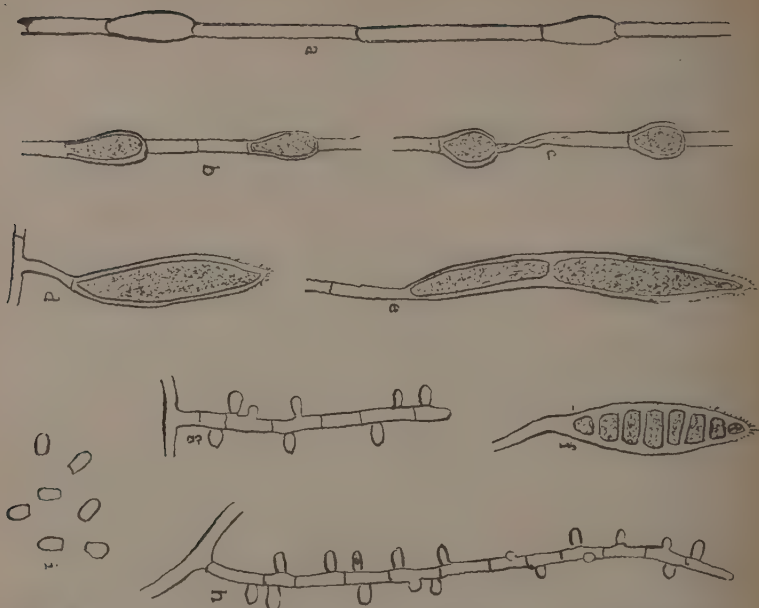


Fig. 25. *a*, rentlements piriformes sur les filaments; *b, c*, transformation des rentlements en chlamydo-spores intercalaires; *d, e*, conidies fuselées; *g, h*, hyphes fertiles en grappes; *i*, conidies du type aeladium; *f*, conidies fuselées pluri-septées du *Microsporium lanosum* (d'après Bodin).

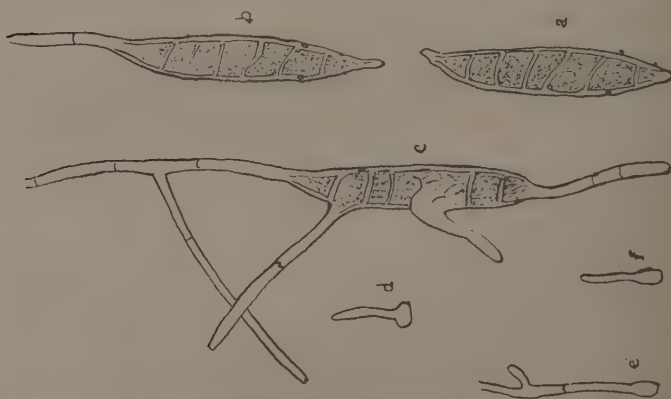


Fig. 26. *a, b, c*, germination des grosses conidies fuselées du *Microsporium lanosum* au 2<sup>e</sup>, 3<sup>e</sup>, 5<sup>e</sup> jour; *d, e, f*, germination des conidies du type aeladium du *Microsporium Audouini* au 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> jour (d'après Bodin).

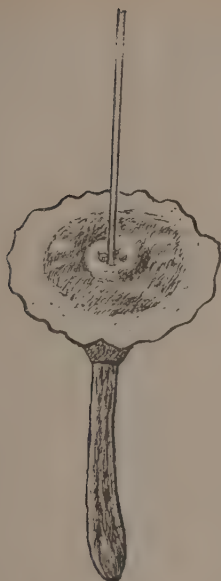


Fig. 27. Godet favique.



Fig. 29. Coupe verticale du cuir chevelu passant par le centre d'un cheveu et d'un godet favique: tarse favique dans le cheveu (d'après Sabouraud).

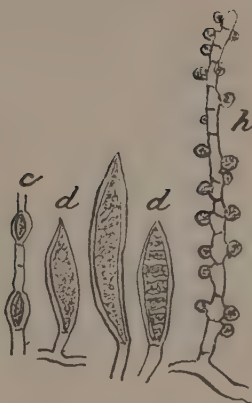


Fig. 28. Formes pouvant être observées à l'examen microscopique d'une culture de *Microsporum*; *c*, chlamydospores; *d*, fuseaux multiloculés; *h*, filament aérien portant les conidies.

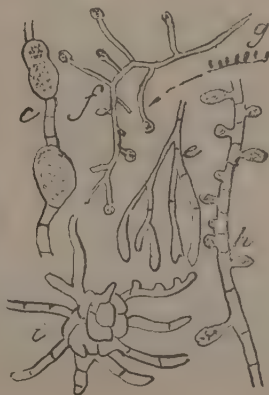


Fig. 30. Formes pouvant être observées à l'examen microscopique d'une culture d'*Achorion*. *c*, chlamydospores; *e*, chandelier favique (fuseaux non septés), *f*, clous faviques; *g*, organe pecliné; *h*, filament aérien portant les conidies; *i*, ébauche de périthèce (d'après Guiart et Grimbert).

caractérisée par le développement, sur la peau ou le cuir chevelu, d'une lésion qui a reçu le nom de godet favique (Fig. 27).

*Examen du cheveu.* — Si nous examinons un poil ou un cheveu provenant d'un godet favique, nous constatons dans son intérieur de longs filaments mycéliens, très sinueux, mais peu nombreux, laissant toujours entre eux beaucoup de la substance propre du cheveu. Le cheveu est décoloré. Toutes les cellules mycéliennes ne laissent voir que leur contenu protoplasmique, tandis que leur enveloppe est peu visible d'où le nom d'*Achorion* (sans membrane). Les filaments faviques présentent une autre particularité; celle de développer de temps en temps des cellules polyédriques d'où naissent trois à quatre filaments nouveaux (tarse favique).

*Cultures.* — Ce parasite peut se cultiver sur divers milieux artificiels. Ces cultures sont caractérisées en général par leur aspect irrégulier, mamelonné; spongieux.

*Caractères botaniques.* — Le développement est tantôt lent, tantôt rapide et chacun de ces cas correspond à une forme végétaline particulière.

1° *Développement lent.* — Filaments mycéliens qui se chargent d'une quantité considérable d'endoconidies disposées en chaînes et très variées comme forme et comme dimensions.

2° *Développement rapide.* — Filaments mycéliens épais produisant de tous côtés des ramifications contournées qui s'enchevêtrent en un lacs compliqué, et ces ramifications à leur tour donnent des rameaux en bois de rennes.

Les organes de fructification et de résistance sont de plusieurs ordres.

1° *Chandeliers faviques.* — A la périphérie de la culture, les filaments mycéliens se terminent en fuseau généralement unicellulaire. Ces renflements bifurqués sont quelquefois réunis en bouquets. Ce sont les chandeliers faviques (fig. 30, c).

2° *Corps jaunes ou clous faviques.* — Renflements ovoïdes de 8 à 15  $\mu$  de diamètre se trouvant sur le trajet de filaments. Leur

couleur est granuleuse et ont une paroi à double contour. Ce sont sans doute des chlamydospores (fig. 30, f).

3° *Conidies*. — Les achorions d'origine animale fournissent des conidies simples et des fuseaux septés (fig. 25 et 26).

## Morphologie comparée de

## l'Achorion.

(d'après SABOURAUD)

## Morphologie comparée du

## Trichophyton.

- |  |   |
|--|---|
| 1° Irrégularité de forme de la cellule mycélienne tantôt mince et longue, tantôt grosse et courte. | 1° Régularité de forme de la cellule mycélienne.            |
| 2° L'enveloppe cellulosique des cellules n'est figurée que par un vide.                            | 2° Le double contour de l'enveloppe cellulaire est évident. |
| 3° Les cellules mycéliennes sont juxtaposées de façon à constituer des filaments.                  |   |
| 4° Les filaments sont flexueux et ondulés.   | 4° Les filaments sont rectilignes.                          |
| 5° Leur division s'opère par tri et tétratomie.  | 5° Leur division se fait par dichotomie.                    |

On peut diviser les favus de l'homme en deux catégories.

1° *Le favus d'origine humaine* ne vivant par conséquent que sur l'homme.

2° *Le favus d'origine animale* produit par des espèces adaptées plus spécialement à des animaux domestiques et passant accidentellement sur l'homme.

*Observation*. — A côté de l'*Achorion Schönleini* on trouve certains favus spéciaux aux animaux et pouvant accidentellement s'inoculer à l'homme. Nous citerons l'*Achorion quinckeanum* et l'*Achorion Arloingi*, spéciaux à la souris; le *Lophophyton galinae* spécial à la poule, etc...



## PYRÉNOMYCÈTES

## Classification des Pyrénomycètes.

Des anthérozoïdes . . . . .		<i>Laboulbéniciacées</i>
Périthèce isolée en forme de bouteille ou de matras.		<i>Sphériacées.</i>
Pas d'anthérozoïdes	Périthèces groupées à la surface d'un stroma	Stroma charnu, souvent claviforme, de couleur claire (jaune, rose ou rouge). . . . . <i>Nectriacées.</i> Stroma corné, dressé en tige ou en buisson, ou cupuliforme, de couleur foncée (brune ou noire). <i>Xylariées.</i> Stroma recouvert par le liège du végétal sur lequel il croît, et formant une lame cornée, aplatie et noirâtre. . . . . <i>Valsées.</i>

## Laboulbéniciacées.

*Dédié à Laboulbène, entomologiste français.*

Les Laboulbéniciacées sont des champignons généralement considérés comme des ascomycètes, ectoparasites des insectes pour la plupart, sur lesquels ils sont fixés par une cellule piedeuse ou basale qui ne pénètre pas dans le tégument, ou beaucoup plus rarement par des rhizoïdes jouant le rôle de crampons (1).

D'une façon générale ce sont des champignons allongés, pédicellés, brunâtres, se développant à la surface des insectes (souvent aquatiques) en assez grande abondance pour couvrir le corps d'une couche noire. Au-dessus du pédicelle se trouve une partie élargie regardée comme un périthèce dans lequel se différencient des cellules ovalaires allongées, qui se subdivisent ultérieurement en un certain nombre de spores fusiformes qui germent sans produire de mycélium;

En résumé les Laboulbéniciacées sont des champignons pourvus d'anthérozoïdes immobiles, dont le contact avec les organes filiformes appendiculaires nommés trichogyne provoque la

(1) Si le lecteur désire se documenter sur les Laboulbéniciacées nous lui recommandons l'étude magistrale de Chatton et Picard (Bulletin de la société mycologique de France 1913).

formation des asques. Spores indivises ou uniseptées, fusiformes, entomophiles.

*Organes mâles* : Les anthéridies peuvent être exogènes ou endogènes. La forme et la disposition des anthéridies sont des plus importantes pour la détermination des genres et des espèces. Tout ce que l'on peut dire de plus général, c'est qu'elles sont situées au voisinage de l'organe femelle dans les espèces monoïques.

*Organes femelles* : Ils se développent toujours aux dépens de cellules que THAXTER nomme cellules basales. Chacune de ces cellules pousse une papille latérale qui, s'allongeant et se divisant en deux donne 1° une portion terminale, simple, unie ou multicellulaire, droite ou spiralée, simple ou ramifiée, qui est le trichogyne. 2° une partie basilaire nommée cellule trichophorique et 3° une partie moyenne ou cellule carpogénique. C'est la division de cette dernière qui produira le périthèce.

La cellule trichophorique produit à son tour deux cellules stipitales (ou support du carpogone), trois cellules basales, et quatre cellules pariétales qui entourent le carpogone et la base de la cellule trichophorique.

Le carpogone se divise en 3 cellules superposées, qui sont la cellule inférieure de soutien, la cellule moyenne ou ascogone, et la cellule supérieure de soutien. Les deux cellules supérieures et inférieures se résorbent, et la cellule moyenne ascogone se divise de nouveaux en 3 cellules, l'une inférieure ou cellule secondaire de soutien, les deux autres juxtaposées et formant les deux cellules ascogènes.

La fécondation amènera le bourgeonnement de celle-ci en asques.

*Périthèce* : Le périthèce provient de la fécondation du carpogone.

#### Principales Laboulbéniciacées.

*Laboulbenia Rougetii*. — Hab. sur les *Brachinus*.

*Laboulbenia Guerinii*. — Sur les élytres de *Gyretes sericei*.

*Laboulbenia vulgaris*. — Sur les *Bembidium* européens.

*Laboulbenia proliferans*. — Sur les grandes espèces de *Chlaenius*.

**Nectriacées.**

Un seul genre nous intéresse, c'est le genre *Cordyceps*.

**Genre *Cordyceps*. FRIES.**

Stroma stipité dressé, claviforme, émanant d'un sclérote entomogène. Périthèces recouvrant toute la surface de la clavule, ou ils sont immergés semi-libres (asques octospores) à spores filiformes hyalines, souvent dissociées en articles bacilliformes ou fusiformes. Pas de paraphyses. Plusieurs espèces ont pour forme conidienne un *Isaria*.

***Cordyceps militaris*.** — Stromas solitaires ou cespiteux, charnus, orangés ou pourpres de 4 centimètres de long ou davantage, formant des clavules subovoïdes, dont la partie renflée est marquée de tubercules produits par l'ostiole légèrement saillant des périthèces immergés, asques longs, très ténus cylindriques, de 4  $\mu$  d'épaisseur renfermant 8 spores filiformes, aussi longues que l'asque, hyalines et bientôt dissociées en articles subellipsoïdes. État conidifère, *Isaria farinosa*.

Il se trouve assez communément sur les larves de divers insectes et surtout les chenilles.

---

## CHAPITRE XVIII

### MUCÉDINÉES

(Fungi imperfecti).

---

Les Mucédinées (du latin *mucedo* moisissure) sont des champignons à thalle filamenteux, cloisonné, de taille ordinairement très réduite, dont l'appareil reproducteur consiste en hyphes plus ou moins différenciées et produisant des conidies de formes

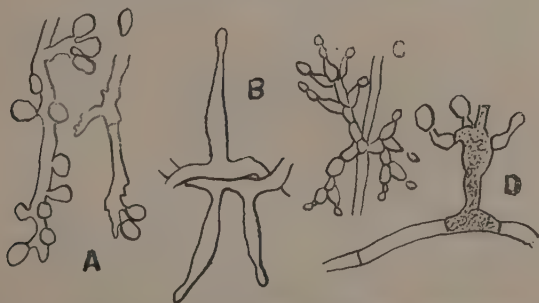


Fig. 31. Divers types de sporulation chez les Hyphomycètes.

A, sporotrichés *G. Sporotrichum*; B, sporophorés *G. Acremonium*; C, phialidés *G. Spicaria*; D, prothialidés *G. Urophila* [d'après Vuillemin].

diverses. Ces plantes ne sont probablement que des formes conidiennes appartenant aux quatre grands ordres des champignons. Toutefois comme le plus grand nombre se refuse constamment dans les cultures, à donner un appareil reproducteur autre que l'appareil conidien, il a fallu créer pour ces champignons un groupe provisoire. Au fur et à mesure des progrès de la mycologie on réduira de plus en plus le nombre des genres compris

dans ce groupe, pour leur assigner leur véritable place dans les cadres de la classification.

Classification des Mucédinées (d'après VUILLEMIN).

P. VUILLEMIN divise les Hyphomycètes en trois groupes : Conidiosporés, Hemisporés et Thallosporés. Voir Tableaux.

Conidiosporés.

	CARACTÈRES	GENRES
a) ALEURIOSPORÉS	Les conidies sont des aleuries ou spores imparfaites qui ont quelque analogie avec les chlamydospores, elles sont unies au mycélium. Dans les vieilles cultures presque tous les filaments sont transformés en <i>aleuries</i> .	<i>Glenospora</i> , BERKELEY et CURTIS. <i>G. graphii</i> , SIEB. VUILL. <i>Corethropsis</i> . <i>C. hominis</i> , VUILL.
b) SPOROTRICHÉS	Les conidies vraies simples ou cloisonnées, hyalines ou colorées, sont isolées et insérées directement sur les filaments mycéliens. Il n'y a que des spores. Aucun appareil différencié pour supporter les conidies. Les conidies sont stipitées, c'est-à-dire munies d'un petit apicule dans le genre parasite.	<i>Sporotrichum</i> , LINK.
c) SPOROPHORÉS	Souvent deux sortes de conidies, des vraies ou des aleuries. Elles sont supportées à l'extrémité des filaments spécialisés sous le nom de sporophores ou de conidiophores.	<i>Acremonium</i> , VUILL. <i>Scopulariopsis</i> , BAINIER. (certaines espèces seulement).
d) PHIALIDIÉS	Le sporophore peut être simple ou ramifié. Ils isolent du mycélium végétatif stérile par une cloison basale. Ces <i>phialides</i> ont la forme d'une bouteille avec col plus ou moins effilé à l'extrémité duquel s'insèrent les conidies (ressemblant aux stérigmates des Basidiomycètes).	<i>Scopulariopsis</i> , (certaines espèces). <i>Aspergillus</i> . <i>Penicillium</i>

Conidiosporés (suite).	(e) PROPHALIDÉS	Les phialides naissent sur un article de forme et de structure spéciale nommé <i>prophialide</i> . Pas d'espèces pathogènes.	
Hemisporés.	Les spores accessoires ou hémisporés sont moins bien différenciées du thalle que les conidies. Le premier rudiment de mycélium fertile (protoconidie) cesse de se différencier, continue à croître et finit par se morceler en une série d'articles qui se séparent et fonctionnent comme spores (deutéroconidies).	<i>Hemispora</i> .	
Thallosporés. La dissémination de l'espèce est produite par des spores appelées thallospores, elles proviennent du morcellement du thalle sans aucune autre différenciation.	a) BLASTOSPORÉS	Les thallospores sont des blastospores. On nomme ainsi des globules arrondis ou ovoïdes nés par bourgeonnement du sommet ou du pourtour des filaments longs ou réduits eux-mêmes à des globules.	<i>Cryptococcus</i> . <i>Monilia</i> . <i>Enantiothammus</i> . <i>Hormodendron</i> . <i>Cladosporium</i> . <i>Malassezia</i> . <i>Pityrosporum</i> .
	b) ARTHROSPORÉS	Les thallospores sont des arthrospores, c'est-à-dire des fragments provenant de la désarticulation des filaments végétatifs. Coupés carrément à l'origine, les tronçons peuvent s'arrondir et augmenter l'épaisseur de leur paroi.	<i>Mycoderma</i> . <i>Madurella</i> . <i>Indiella</i> . <i>Epidermophyton</i> . <i>Trichophyton</i> . <i>Microsporum</i> . <i>Achorion</i> . <i>Trichosporum</i> .
Microsiphonées (1)	Ce groupe individualisé par Vuillemin est caractérisé par un mycélium continu, de calibre très fin comme celui des Bactéries ou Schizomycètes et par l'absence de noyaux distincts. Genre parasite : <i>Oospora</i> syn. <i>Discomyces</i> , <i>Nocardia</i> , <i>Actinomyces</i> .		

### Genre *Sporotrichum*. LINK.

Filaments fructifères couchés, ramifiés, cloisonnés, de même diamètre sur toute leur longueur, incolores ou faiblement colorés.

(1) Genre provisoire, car depuis on a reconnu que les *Oospora* possédaient un thalle cloisonné.

Spores naissant à l'extrémité ou sur les dents terminales des ramuscules, en général solitaires, ovoïdes ou globuleuses, incolores ou faiblement colorées, unicellulaires.

**Sporotrichum Beurmanni.** MATRUCHOT et RAMOND. — Observé dans les tissus ou dans le pus, ce champignon ressemble à un bacille assez gros, court, mesurant de 3 à 5  $\mu$  de long sur 2 à 3  $\mu$  de large, basophile légèrement granuleux et entouré d'une membrane très grêle, incolore. On connaît cette forme sous le nom de



Fig. 31. A gauche, *Sporotrichum Gougeroti* montrant son aspect habituel; filament grêle, filament multiforme, conidies, formes bourgeonnantes. A droite, *Sporotrichum Schenki* montrant des filaments réguliers réunis en coremium et les conidies allongées (d'après Langeron et Brumpt). Grossi 640 fois.

forme en navette ou forme courte. Ces éléments sont libres ou phagocytés. PINOY a décrit aussi une petite forme conidie levure de la dimension des *Piroplasma*s à l'intérieur des macrophages.

*Caractères du champignon dans les cultures.* — Mycélium rampant, fin de 2  $\mu$  de diamètre, cloisonné, incolore, très ramifié. Les conidies naissent isolément sur les côtés à l'extrémité des longs filaments et aussi au bout de très courtes ramifications



latérales. Elles se groupent facilement et fréquemment en glomérule ou en manchon cylindrique d'une largeur de 10  $\mu$ . Les spores sont piriformes et sont reliées au filament par un pédicule très fin (1 à 2  $\mu$  sur 3  $\mu$  5. Détachées, elles sont apiculées, mesurent 3,6  $\mu$  de long sur 2,4 de large et prennent la forme ovale. Chlamydospores de dimensions variables.

*Cultures.* — Les cultures s'obtiennent facilement sur milieu de Sabouraud à une température de + 22°; à + 38° elles sont difficiles. L'aspect des colonies est caractéristique. Elles sont cérébriformes, elles débutent par un mycélium blanc qui se pigmente en noir, ou en brun chocolat au moment de l'apparition des appareils reproducteurs. Sur gélose glycosée peptonée on obtient des colonies typiques.

Les ensemencements en points séparés donnent des colonies arrondies, godronées, saillantes, hémisphériques, quelquefois coniques et fortement surélevées pouvant acquérir plusieurs centimètres de diamètre. La surface est longtemps blanche, puis café au lait, puis brun chocolat et noir brun.

Les colonies sont entourées d'une auréole large de 1 à 20 et même 30 millimètres. Elles sont très adhérentes à la gélose. Il existe un certain degré de pléomorphisme sur ce milieu. — Sur pomme de terre glycinée ou peptonée à 4 p. 100, carotte glycinée à 4 p. 100 acidifiée à 3 p. 100 d'acide tartrique, sur betterave blanche ou rouge glycinée à 4 p. 100, l'aspect est assez caractéristique. Les colonies se présentent sous forme de points blancs opaques, globuleux, atteignant 1 ou 2 millimètres. Ces colonies peuvent se réunir et former une nappe blanche lobulée. La partie asséchée se moutonne, brunit, devient presque noire et se poudre d'une poussière brun-roux. La partie inférieure, baignée de liquide reste blanche, moins nettement lobulée, parfois lisse, plus épaisse et plus élastique. Sur gélatine simple pas de liquéfaction.

Les cultures strictement anaérobies sont négatives. Pas de liquéfaction de l'empois d'amidon, ni pour le blanc d'œuf; production douteuse d'uréase, les nitrites et nitrates ne sont pas modifiés, pas d'hémolysine, pas d'Indol, le lait n'est pas coagulé. Sur gélatine (riche en substances nutritives) liquéfaction. Le *Sporotrichum Beurmanni* fait fermenter la glycérine, le glycose, le lévulose, le galactose il ne produit pas la fermentation alcoolique. La saccharose est intervertie en glycose et lévulose puis secondairement en acide lactique. La maltose est intervertie en

glycose qui secondairement donne de l'acide lactique. Sans action sur la lactose. Pathogène pour les animaux. (Rat, cobaye, lapin, chien.) Suivant le degré de virulence du parasite, on a pu reproduire chez ces animaux les différentes variétés cliniques de la sporotrichose. Le rat est l'animal de choix.

**Sporotrichum Schenki.** (HEKTOEN et PERKINS 1900). — Découvert par SCHENCK en 1898 et cultivé à nouveau par HEKTOEN et PERKINS en 1900.

*In vivo* : Forme courte oblongue que les auteurs américains désignent sous le nom de spores. Forme inconnue chez l'homme. Étudiée chez les animaux. Ces parasites sont ronds, ovales ou massués. Les plus petits mesurent de 1 à 2  $\mu$  de diamètre, les plus gros de 2 à 4  $\mu$ .

*Cultures.* — Pousse aisément à + 37°. Les cultures restent généralement blanches et peu pigmentées. Mycélium ramifié se réunissant en faisceaux. Conidies rares de 3 à 5  $\mu$  prenant naissance le long ou à l'extrémité de longs filaments; les courtes ramifications latérales sont rares. MATRUCHOT a signalé un type un peu aberrant de fructification. Il n'y a pas de chlamydospores connues.

*Gélatine glucosée peptonée.* — Culture blanche assez rapide, liquéfaction rapide et totale. *Bouillon sucré* à 4 p. 100. Culture très luxuriante sous forme de petits flocons cotonneux.

*Gélose simple.* — Végétation assez rapide. En trois ou quatre semaines à + 22° il devient brun chocolat ou noir. Le **Sporotrichum Beurmanni** y reste blanc alors que sur les autres milieux il devient brun chocolat. — *Sérum sanguin* culture lente. *Carotte, betterave.* Culture luxuriante.

*Lait.* — Développement très maigre. Pas de coagulation, pas de virage du lait tournoisé. Fait fermenter la lactose ce que ne fait pas le *Sporotrichum Beurmanni*.

Pathogène pour le rat et la souris, peu ou pas pour le chien, le lapin, et le cobaye.

#### Principaux sporotrichum pathogènes.

**Sporotrichum Schenki.** HEKTOEN et PERKINS 1900.

**Sporotrichum Beurmanni.** MATRUCHOT et RAMOND 1905.

**Sporotrichum asteroïdes.** SPLENDORE 1909.

- Sporotrichum Jeanselmei*. BRUMPT et LANGERON 1910.  
*Sporotrichum Gougeroti*. MATRUCHOT 1910.  
*Sporotrichum indicum*. CASTELLANI 1908.  
*Sporotrichum Lesnel*. VUILLEMIN 1910.  
*Sporotrichum Carougeaui*. LANGERON 1913.

Caractères différentiels des *Sporotrichum* (d'après GOUGEROT).

	SPOROTRICHUM BEURMANNI	SPOROTRICHUM SCHENKI
Culture sur gélose de Sabouraud	Cultures difficiles mais possibles à 38°. Température optima 22°. Les colonies s'étendent indéfiniment et peuvent atteindre plusieurs centimètres.	Culture facile à 38°. Température optima de 30 à 38°. Les colonies s'étendent indéfiniment et peuvent atteindre plusieurs centimètres.
Aspect macroscopique	Pigmentation rapide et complète, cultures colorées, chocolat ou noires. Aspect de circonvolutions cérébrales. Voile sur bouillon sucré. Pousse sur gélatine glucosée qui est liquéfiée.	Pigmentation lente, le plus souvent inconstante et absente. Colonies généralement blanches. Aspect d'une chaîne de montagnes avec vallées presque rectilignes. Voile sur bouillon sucré. Pousse sur gélatine glucosée qui est liquéfiée.
Aspect microscopique	Filaments plutôt rectilignes de 2 $\mu$ de diamètre. Quelquefois agrégés mais surtout enchevêtrés, jamais parallèles. Spores de 3 $\mu$ sur 5 à 6 $\mu$ très nombreuses, insérées tout le long des filaments ou à l'extrémité de rameaux latéraux, courts ou larges.	Filaments plutôt curvilignes et onduleux, de 2 $\mu$ de diamètre, agrégés en faisceaux. Spores très rares, souvent même absentes, insérées le long et surtout à l'extrémité de longs filaments. Peu ou pas de conidiophores courts ou latéraux.
Propriétés biologiques	Fait fermenter la saccharose, ne semble pas faire fermenter la lactose	Fait fermenter la lactose, ne semble pas faire fermenter la saccharose.
Expérimentation	Virulent pour le rat.	Peu ou pas virulent pour le rat.

**Genre *Glenospora*. BERKLEY et CURTIS.**

Hyphes cloisonnées rameuses. Conidies (Aleuries) longtemps non caduques, globuleuses, grandes et lisses, ovales, tronquées à la base, parfois pédicellées. Genre polymorphe.

***Glenospora Graphii*** SIEBENMANN 1889. VUILLEMIN 1912. Syn.: *Graphium penicilloïdes* HALLIER, 1869. SIEBENMANN 1884. *Verticillium graphii*. *Tricholothecium roseum* Persoon 1801.

Champignon constitué par des filaments mycéliens d'abord transparents et incolores devenant plus tard colorés en brun et pourvus d'une membrane épaisse; ces filaments sont cloisonnés, ramifiés et mesurent 2 à 3  $\mu$  de diamètre. Les spores (aleuries) sont ovoïdes et mesurent 5  $\mu$  de long sur 3  $\mu$  de large; elles deviennent brunes à maturité.

Rencontré plusieurs fois chez l'homme dans des otomycoses.

**Genre *Corethropsis*. CORDA.**

Hyphes stériles diffuses, quelquefois fasciculées sporophores nuls ou diffus, quelquefois fasciculés, portant des rameaux irréguliers ou verticillés, formés de rameaux fertiles et de sous-aleuries naissant au sommet des hyphes ou des sporophores çà et là intercalaires. Sporophores et aleuries hyalins ou pâles.

***Corethropsis hominis*.** — Ce champignon fut trouvé chez un homme de 53 ans qui était venu à la consultation pour une lésion de l'avant-bras présentant des caractères nettement trichophytoïdes (cercles concentriques saillants, rouges, infiltrés, recouverts de croûtes brunâtres). Cette lésion existait depuis plus de six mois. Les cultures faites sur carotte avec de la sérosité recueillie à la surface de la lésion donnèrent des colonies adhérentes, hérissées de buissons étoilés. Ces cultures présentaient une coloration jaune très marquée. Il s'agissait d'un champignon voisin des sporotrichum, mais s'en différenciant par un certain nombre de caractères :

Spores terminales uniques portées sur des rameaux différenciés; spores rondes ou piriformes; appareils mycéliens constitués par des hyphes fasciculées présentant çà et là des conidio-phores latéraux courts, terminés par une spore, grappes sporifères ramifiées le long des colonnes mycéliennes.

VUILLEMIN qui étudia ce champignon en fit la détermination précise. Il le rapporte à une espèce nouvelle du genre *Corethrospis* CORDA, espèce qu'il dénomme *Corethrospis hominis*. Cette Mucédinée prend sa place dans le groupe des Conidiosporés immédiatement après les Sporotrichés.

La guérison fut obtenue rapidement par l'iode de potassium.

### **Genre *Acremonium*. LINK 1809.**

Caractères « Filaments mycéliens couchés, peu ramifiés, portant latéralement des sporophores simples, présentant accidentellement une ramification latérale et se terminant par une seule spore incolore », ou faiblement colorée.

***Acremonium Potronii*. VUILLEMIN 1911.** — Mucédinée isolée par POTRON et NOISSETTE (dans un cas de mycose qui présentait les allures d'une affection gommeuse) et étudiée par VUILLEMIN.

Dans les tissus aucun caractère n'a pu lui être attribué.

**Cultures :** Les filaments mycéliens couchés sur le milieu nutritif sont parsemés de conidiophores naissant à angle droit. Leur longueur totale mesure 15 à 20  $\mu$ . Les conidies ovales, lissés et roses ont 4-5  $\mu$  sur 2-2  $\mu$  2 (Gougerot.)

**Cultures.** — Végète sur tous les milieux usuels employés en mycologie, cependant il préfère les milieux sucrés *gélase glycosée peptonée*, ou *gélase maltosée*, *carotte*, *betterave glycerinée*. Optimum cultural 25 et 30°. Colonies d'abord blanches duveteuses puis prenant une teinte rose, puis jaune orange. En vieillissant la culture s'épaissit, se plisse « et se hérisse de piquants formés de filaments réunis en bouquets ou en tapis et atteignant parfois 5 millimètres de hauteur; filaments conidiophores en faisceaux (VENON). Pathogène pour le cobaye.

**Diagnostic.** — Il est indispensable pour faire un diagnostic précis de faire des cultures avec le liquide articulaire, le pus des genoux ou l'enduit buccal.

**Traitement.** — L'iode de potassium intensif et à des doses normales est indiqué.

### **Genre *Cladosporium*. LINK (1) 1809.**

Conidiophores, dressés, penchés ou couchés, d'un jaune ver-

dâtre, portant à leur extrémité, ou au voisinage, des spores ovoïdes, simples d'abord, puis cloisonnées. Ces cellules, ainsi découpées peuvent devenir distinctes mais non séparées, de sorte que les spores paraissent disposées en chapelet.

**Cladosporium madagascariensis.** GUEGUEN. VERDUN, 1912.  
— GUEGUEN a décrit en 1911 un parasite de l'espèce humaine appartenant au genre *Cladosporium* qui produit une affection mycotique nouvelle observée à Madagascar. La maladie dont il s'agit a été observée chez un Malgache de 28 ans. Elle consiste en lésions ulcéreuses de la jambe nettement consécutives au dire du malade à un bain pris dans un ruisseau. Après une fausse guérison de quelques mois, une récurrence de l'ulcération primitive se produisit sous l'influence de marche forcée donnant alors naissance à des nodosités confluentes, puis à des tumeurs ulcéreuses, qui laissèrent suinter un liquide séro-purulent à odeur fétide et envahirent le membre inférieur droit depuis le pied jusqu'à la cuisse. Des ponctions aseptiques de tumeurs non ulcérées fournirent un liquide noirâtre sanguinolent dont l'ensemencement sur *gélase* SABOURAUD donna toujours des cultures pures du *Cladosporium* dont nous allons donner la description. Le frottis du pus coloré au Giemsa, montre de nombreuses hématies, quelques gros polynucléaires et des masses ovoïdes ou en grain d'avoine d'environ  $3\ \mu$  à  $4\ \mu$  de long.

Le champignon se laisse cultiver sur les divers milieux usuels. Inoculé en strie il donne dans presque tous les milieux un thalle brun chocolat dont la surface pulvérulente d'abord plane ne tarde pas à prendre un aspect cérébriforme. La carotte est le milieu de choix. On obtient aux points inoculés des mamelons uniques à surface plissée faisant saillie de plus de 1 centimètre et formée d'une intrication serrée d'hyphes dont les parties externes se couvrent de fructifications analogues.

Ensemencé en gouttes pendantes sur bouillon de carottes le champignon fournit des articles qui germent à  $+ 22^{\circ}$  vers le 3<sup>e</sup> jour fournissant un bourgeonnement oïdien abondant; l'aspect du jeune thalle rappelle alors celui d'un *Dematium*.

Le quatrième jour quelques articles se dressent dans l'air et prennent l'aspect d'arbuscules formés d'éléments ovoïdes dont les dimensions décroissent progressivement de la base au sommet des rameaux, plus tard encore se constituent de véritables appareils conidiens, à pied allongé formé d'hyphes à cloisons distantes et rappelant l'aspect d'un *Cladosporium* type.



Dans les cultures cellulaires sur lamelles de carotte, les oïdies sont remplacées par des filaments cylindriques flexueux, ramifiés à cloisons espacées, sur lesquels les branches constituant le bouquet conidifère terminal tendent à se grouper en verticilles plus ou moins nets, les rameaux ultimes se résolvant en articles ovoïdes semblables aux oïdies mais plus petits.

La variabilité de taille et de forme des éléments de ce champignon ne permettent guère d'en préciser les dimensions. Voici quelques moyennes. Oïdies des premiers filaments germants  $5 \times 4$ ,  $3 \times 4$ ,  $10 \times 3$ ,  $8 \times 4 \mu$ .

Cellules des hyphes des cultures solides 2,5 à 3  $\mu$ , 15 à 25  $\mu$ .

Cellules conidiformes des longues chaînettes  $3 \times 2$ ,  $4 \times 2$ ,  $3 \times 3,5$  à  $4 \mu$ .

Pathogène pour le cobaye et la souris blanche.

### *Genre Scopulariopsis* BAINIER.

**Mastigocladium**, Syn. MATRUCHOT 1911. — Hyphomycètes conidiosporés ayant les apparences des *Monilia* et les caractères essentiels des *Penicillium*.

**Scopulariopsis Blochii**, MATRUCHOT 1911. — Isolé par Bruno BLOCH dans des chancres verruqueux d'inoculation des deux mains et des coudes, s'accompagnant de lymphangite ascendante gommeuse des deux bras ressemblant à de la sporotrichose.

« Mycélium rampant, fin, de 0  $\mu$  5 à 1  $\mu$  5 de large, peu ramifié qui tend à s'agréger. Sur ce mycélium se dressent les rameaux des appareils conidiens. Cet appareil comprend un conidiophore effilé au bout duquel naît une suite de conidies en chapelets très longs. Ces conidies restent intimement unies entre elles et ressemblent assez bien à la lanière d'un fouet dont le conidiophore serait le manche (c'est pour cette raison que MATRUCHOT a donné le nom de *Mastigocladium* à ces organismes. Sporophores 20 à 30  $\mu$ . Conidies 3 à 4  $\mu$  de long sur 1  $\mu$  5 à 2  $\mu$  de large. Les cultures deviennent charnues et de couleur crème.

**Scopulariopsis Koningi**, VUILLEMIN 1907. Syn. *Monilia Koningi*. — Champignon isolé par Jannin dans une tumeur demi fluctuante formant sur la face dorsale du poignet droit une saillie ovoïde d'une hauteur de 3 centimètres longue de 5 centimètres et large de 3.



L'ensemencement du pus donna une Mucédinée qui fut identifiée au *Scopulariopsis Koningi*. Voici ces principaux caractères. Mycélium hyalin d'où s'échappent des hyphes fertiles, cloisonnées, quelquefois rétrécies au niveau des cloisons larges de 3 à 4  $\mu$  en moyenne. Les hyphes peuvent se grouper en faisceaux ; elles se ramifient rarement et donnent naissance à des sporophores simples de longueur très variable (10 à 60  $\mu$ . Certains conidiophores présentent leur calibre maximum à la base et diminuent constamment d'épaisseur jusqu'à la portion distale.

Leur longueur oscille entre 20 et 30  $\mu$ . Les spores forment à l'extrémité du filament fertile une chaîne à apparence grossière de *Monilia* ; mais elles présentent la faculté d'insertion caractéristique des *Scopulariopsis*. Les plus grosses mesurent 6  $\mu$  de large sur 8  $\mu$  de long hile et apicule compris. Leur forme générale est celle d'un fer de lance à base tronquée et sommet pointu, primitivement à membrane lisse, elles épaississent leur membrane qui se revêt de tubercule et prend une coloration brune. Présence de chlamydospores semblables à celles du *Microsporum Audouini*.

Tout récemment RAYMOND et PARISOT concluent de leurs recherches que l'affection de la gelure des pieds n'est autre qu'un mycétome provoqué par *Scopulariopsis Koningi*. JANNIN avait déjà trouvé en 1912 ce parasite dans une lésion gommeuse du poignet. SARTORY en mai 1916 l'a isolé d'une lésion gommeuse de la cuisse.

### Genre *Isaria*.

Le Genre *Isaria* n'est pas plus autonome que le genre *Coremium*. L'agrégation des filaments sporifères en colonnes dressées simples ou ramifiées, chargées de conidies sur toute leur surface ou seulement dans la partie supérieure la plus distante du support humide peut s'observer dans les cultures de genres dépourvus de toute affinité entre eux.

VUILLEMIN l'a obtenue chez une Sporotrichée (*Rhinocladium Lesnei*), et chez une Sporophorée (*Acremonium Potronii* (1).

L'*Isaria brachiata* BATSCH SCHUMACH est un *Acremonium* agrégé. D'autres *Isaria* sont des *phialidés*. VUILLEMIN a rapporté

---

(1) VUILLEMIN : Les Conidiosporés *Bull. soc. des Sc. de Nancy*, 1910 série 3, t. XI, p. 129-172.

au Genre *Pénicillium* (1) sous le nom de *Pénicillium Briardii* l'*Isaria truncata* BRIARD (non Pers) et sous le nom de *Penicillium Anisopliae* l'*Isaria destructor*. METCH. (Entomophthora Anisopliae. METCH, 1878. *Metarhizium Anisopliae*, N. SOROKIN, *Oospora destructor*. Delacr.)

*Monilia Penicilloïdes* de Delacroix est un *Penicillium penicillioïdes*, voisin des *Penicillium Anisopliae* et *Briardii* et intermédiaire entre eux.

D'autres *Isaria* résultent de l'aggrégation de conidiophores qui, considérés isolément ou individualisés dans les cultures, offrent les caractères des Verticillacés. TULASNE et DE BARY, dit COSTANTIN, en « cultivant l'*Isaria farinosa* qui se développe sur des insectes, ont montré que cette forme ordinairement composée de filaments agrégés comme un *Coremium*, pouvait se développer dans certains liquides nutritifs sous forme filamenteuse et donner un champignon qui doit être rapproché des *Spicaria* ». Il déclare qu'il faut substituer le nom d'*Isaria farinosa* par celui de *Synspicaria*. VUILLEMIN déclare avec raison que ce nouveau nom générique est superflu, puisque les caractères essentiels du genre *Spicaria* persistent dans les formes isariennes comme dans les formes diffuses. On dira donc dit VUILLEMIN *Spicaria farinosa*, quitte à mentionner la fréquence de l'aggrégation dans la description, qui ne doit pas être confondue avec la nomenclature.

VUILLEMIN a nommé *Spicaria Bassiana* le *Botrytis Bassiana*. BALSAMO. *Spicaria densa* le *Botrytis tenella* SACC. (*Sporotrichum densum* LINK., *Isaria densa* GIARD.) *Spicaria Delacroixii* le *Botrytis Delacroixii* SACC. (*Botrytis Acridiorum* BROGNIART et DELACROIX, non TRABUT.) L'*Isaria ochracea* BOUDIER devient le même *Spicaria ochracea*. *Spicaria Aphodii* VUILLEMIN, agent d'une nouvelle muscardine rose, mais l'auteur n'est pas certain qu'elle n'ait pas été antérieurement signalée sous des noms différents. C'est peut-être *Hyphasma roseum* REBENTISCH 1804 que PERSOON, 1822 rapporte avec doute au genre *Sporotrichum*.

Le genre *Spicaria* comme le genre *Penicillium* comprend donc plusieurs parasites des insectes, dont les uns présentent habituellement la forme isarienne. (*Spicaria farinosa*, *Spicaria densa*, *Spicaria ochracea*), dont les autres ont des conidiophores

---

1. VUILLEMIN : Les *Isaria* du genre *Pénicillium* Bull. soc. Mycol t. XX, p. 214, 222, 1904.

le plus souvent épars. (*Spicaria Delacroixii*, *Spicaria Acri-diorum*). DELACROIX a observé des clavules isariennes sur les chenilles de *Bombyx Rubi* infectées de *Spicaria Bassiana*.

A la famille des Verticilliacées. VUILLEMIN rattache le genre *Gibellula Cavara*, 1894, dont on ne connaît jusqu'ici que les formes isariennes, parasite des insectes et des araignées. Le type de ce genre est le *Gibellula arachnophila*. VUILLEMIN 1910.

*Isaria arachnophila*. DITMAR 1817. — Le genre *Corethropsis* offre l'intermédiaire entre les *Spicaria* et les *Gibellula*.

*Isaria farinosa*. Fr. — Filaments floconneux, entrecroisés sur la plus grande partie de leur longueur en une sorte de stipe dressé, blanc ou un peu jaunâtre, de 1 à 2 cent. de long, farineux, à sommet plus ou moins dilaté et aplati, tantôt entier, obtus ou tronqué, tantôt incisé — crénelé ou sub-rameux, velouté ou glabrescent. Conidies nombreuses, ovoïdes ou ovales obtuses à l'extrémité de la partie libre des filaments.

Mycélium précédant, d'après TULASNE, l'appareil conidien isarimorphe, byssoïde, blanc jaunâtre, épais, à filaments étalés, peu t irrégulièrement rameux, portant aussi des conidies ovoïdes mais plus petites.

### **Genre *Botrytis* MICHELI emend LINK.**

Réuni les *Polyactis*, *Phymatotrichum*, *Aemosporium*, *Nodulisorium*, *Capillaria* des auteurs). — Mycélium rampant cloisonné, conidiophores dressés, vaguement dendroïdes rameux. Ramuscules tantôt aigus au sommet (*Eubotrytis* SACCARDO), tantôt à sommet dilaté-verruculeux (*Phymatotrichum* SACCARDO), tantôt enfin découpés en crête dont chaque dent porte une conidie (*Cristularia* SACCARDO).

Conidies réunies de diverses manières au sommet des rameaux, mais jamais agrégées en vrais capitules, continues, globuleuses, ellipsoïdes ou oblongues, hyalines ou de couleur claire.

Principaux *Botrytis* :

*Botrytis Bassiana* BALSAMO-MONTAGNE.

*Botrytis tenella*, PRILLIEUX-DELACROIX.

*Botrytis effusa*. BEAUVERIE.

*Botrytis pyogène* de AUCHÉ et LE DANTEC.

**Botrytis Bassiana.** BALSAMO-MONTAGNE. — Mycélium diffus, tomenteux, de 2 à 3  $\mu$  enveloppant l'hôte de toutes parts. Conidiophores dressés, blancs, simples ou dichotomes, de 300 à 900  $\mu$  brièvement ramuleux, à rameaux épars, de 20 à 50  $\mu$  de long. Conidies globuleuses de 2 à 3  $\mu$ , formant des glomérules capituliformes de trois, cinq, six ou plus à l'extrémité de rameaux.

Produit la muscardine des vers à soie. On peut avec SACCARDO considérer comme variété de *Botrytis Bassiana* le *Botrytis tenella*. Voir pour plus de détails l'histoire de ce champignon par GIARD (*I. densa* Travaux de la station zoologique de Wimereux Paris 1892).

**Genre Hemispora.** P. VUILLEMIN, 1906.

Mycélium de mucédinée-macronemée, abondant hyalin, fin, cloisonné, ramifié. Tubes fertiles ramifiés à la base. Chaque rameau conidiophore se termine sur une vésicule (protoconidies), précédée d'un étranglement annulaire à paroi épaissie, brune, rigide. La vésicule se transforme, en tout ou en partie, en une série de segments sporiformes (deutero-conidies). Parfois elle s'allonge en un nouveau conidiophore ou émet des ramifications susceptibles de se comporter de même ».

**Hemispora stellata.** VUILLEMIN, 1906. — Mucédinée trouvée pour la première fois par VUILLEMIN. GOUGEROT et CARAVEN signalent sa présence dans une ostéo-périostite primitive. Elle a été observée deux fois dans des affections gommeuses. Elle vit à la face inférieure de croûtes d'*Aspergillus repens*.

Mycélium cloisonné large de 2 à 3  $\mu$ , hyaline, les ramifications sont nombreuses, les spores deutéro conidies sont en nombre variable. Elles sont le plus souvent en tonnelet mesurant 2  $\mu$  6 à 3  $\mu$  5 à membrane fuligineuse, granuleuse.

Les cultures sont très irrégulières, centriformes, les colonies jeunes sont teintées en brun chocolat tirant sur le noir, les colonies âgées sont de teinte rouille entourées d'un petit liseré blanc. Pathogène pour les animaux chez lesquels il produit des lésions multiples, profondes et viscérales. Le traitement ioluré donne d'excellents résultats.

**Genre Hormodendron,** BONORDEN, 1851.

Hyphes stériles rampantes, cloisonnées, ramifiées, sporophore

dressé, cloisonné, non renflé au sommet, plus ou moins ramifié et portant des chaînettes de spores acrogènes, unicellulaires, ovoïdes ou arrondies.

**Hormodendron Fontoyonti.** LANGERON, 1913. — Isolé par FONTOYNOT et CAROUGEAU des squames d'une dermatomycose malgache, le *Kodi potsy* ou *achromie parasitaire* de la tête et du cou à recrudescence estivale de Jeanselme (linea flava de CASTELANI et CHALMERS).

Ce champignon est très abondant dans les squames épidermiques, il se présente sous deux formes : 1° des articles mycéliens cylindriques, onduleux, allongés; 2° des éléments (spores?) arrondis, en amas parfois considérables; ces éléments peuvent être pourvus d'une sorte de petit bourgeon qui leur donne l'aspect d'une gourde. Voici la diagnose du champignon.

Hyphes stériles de diamètre variable (3 à 8  $\mu$ ) bien verdâtre cloisonnées à parois épaisses. Sporophores bien différenciés, dressés, volumineux, non renflés à l'extrémité, celle-ci portant quelques renflements irréguliers sur lesquels s'insèrent des chaînettes de spores très caduques mesurant 3  $\mu$  5 sur 3  $\mu$  à 8 sur 4  $\mu$  et présentant à leur extrémité une ou deux petites tubérosités analogues au disjuncteur de *Monilia*.

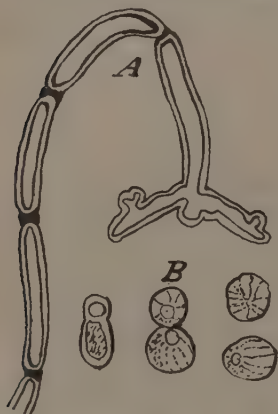


Fig. 33. *Malassezia furfur*. A, filament cloisonné émettant des rameaux qui se résolvent en globules  $\times 2.300$ ; B, formes globuleuses dites spores (d'après Vuillemin).

**Genre *Malassezia*, H. BAILLON, 1889**

« Filaments cylindriques cloisonnés, ramifiés en T aux extrémités et bourgeonnants, les rameaux et parfois les articles isolés portent les conidies solitaires ou en grappe, rondes ou ovoïdes, lisses ou marquées de stries longitudinales, rayonnantes ou en hélice ».

***Malassezia furfur*, CH. ROBIN, 1853.** Syn : *Microsporum furfur*, CH. ROBIN, 1853. *Epidermophyton*, BAZIN, 1862. *Sporotrichum furfur*, SACCARDO, 1886. *Malassezia furfur*, BAILLON, 1889. *Oidium furfur*, ZOPF, 1890.

***Oidium subtile* KOTLIAR, 1912.**

Le *Malassezia furfur* occasionne une dermatose caractérisée par l'existence de grandes traces jaunâtres, couleur café au lait, siégeant au niveau des parties recouvertes par les vêtements et en particulier du thorax et du cou. Il est très abondant. Il se présente sous la forme mycélienne et la forme sporulaire qui sont toujours associées l'une à l'autre. La dimension des filaments mycéliens est de 3  $\mu$  de diamètre et sont sectionnés par des cloisons transversales disposées à intervalles irréguliers. Certains de ces filaments sont ramifiés et les ramifications se résolvent en globules d'abord disposés en amas et qui s'isolent ensuite.

Ces globules sont le plus souvent sphériques et mesurent 2  $\mu$  5 à 5  $\mu$  de diamètre. Ils possèdent une membrane ornée de côtes en spirales. Ils sont généralement disposés par amas au milieu des mailles formées par les filaments.

Le parasite n'a pu être cultivé.

#### Genre *Pityrosporum*, SABOURAUD, 1895.

*Pityrosporum ovale*. BIZZAZERO, 1882. Syn : *Pityrosporum Malassezi*, SABOURAUD, 1895. — Ce microorganisme appelé aussi bacille bouteille a été découvert par Malassez et étudié par Unna et ses élèves. Il a la forme d'une gourde avec une grosse partie sphérique surmontée d'une sorte de bourgeon ce qui l'a fait surnommer *Saccharomyces ovalis* par Bizzazero. Jusqu'ici on n'a pas cultivé ce parasite. Il semble être un dermatophyte voisin du *Malassezia furfur*. C'est l'opinion de Sabouraud qui le nomme *Pityrosporum Malassezi*. Il est généralement disposé en amas et ses dimensions peuvent varier de 3 à 15  $\mu$  dans les deux sens.

### TRICHOSPORON

#### Genre *Trichosporon*, BEHREND, 1890.

Le genre *Trichosporon* (*Trichosporum* de VUILLEMIN) a été décrit en 1840 par BEHREND pour un champignon trouvé chez un individu, au niveau de la moustache. Il poussait à la surface des poils et constituait sur leur trajet de petites nodosités de consistance tantôt dure, tantôt molle. BEHREND donna le nom de trichomycose nodulaire à cette maladie pileaire. On a rattaché aujourd'hui à ce même genre les parasites trouvés dans la *pie-dra de Colombie* (trichomycose nodulaire de Juhel-Renoy) dans la



*pie*dra nostras de Unna, dans la *linea nodosa* de Cheadle et Malcom-Morris, le champignon des chignons de BEIGEL et le champignon trouvé en France par VUILLEMIN dans la moustache d'un homme de 36 ans. Ce savant a proposé le nom de trichospories pour désigner toutes ces affections nodulaires des cheveux et des poils. (Fig. 34).

*Caractères des parasites in situ.* — Les trichosporum végètent



Fig. 34. Poils de moustache atteints de trichosporie (d'après Vuillemin).

à la surface des poils et forment des nodosités visibles à l'œil nu. La gaine parasitaire n'a pas d'épaisseur uniforme, elle s'atténue vers les deux extrémités. Dans la région la plus développée l'enveloppe parasitaire examinée au microscope par sa surface libre, offre l'aspect d'une mosaïque formée de cercles pour la plupart tangents entre eux. Les méats qui le séparent sont comblés par une substance hyaline, forme de granulations inégales qui semblent résulter de la gélification des membranes cellulaires. Les cellules qui paraissent isolées, possèdent un noyau vésiculeux, un protoplasme dense et une membrane bien développée. Dans la partie profonde les cellules du cham-

pignon sont recouvertes et entremêlées d'écaillés épidermiques : leurs contours sont des plus irréguliers. Cependant, on peut distinguer, dans ce labyrinthe d'éléments informes les lignes directrices qui révèlent leur agencement en piles ramifiées. Celles-ci sont les unes étalées à la surface du poil, les autres dressées obliquement ou perpendiculairement aux premières. Le cham-



pignon donne donc des ramifications en surface et en hauteur, mais les premières végétations sont comprimées, écrasées par les couches superficielles, elles se déforment et meurent en partie, de telle sorte que la sériation est surtout apparente à la surface. Sur dissociation de l'enduit parasitaire, on aperçoit des cellules unies en filaments ramifiés ou dissociées en chaînettes, en paires de cellules séparées par une large cloison, en cellules coulées.

*Culture.* — La culture des trichosporum a été réalisée sur différents milieux solides ou liquides; on les isole sans peine et ils fournissent facilement des cultures pures qui prospèrent entre  $+ 10$  et  $+ 30^{\circ}$ .

**Trichosporum ovoïdes**, BEHREND, 1890. — Dans les nodosités les éléments cellulaires les constituant mesurent  $3,5 \mu$  à  $4 \mu$  de long sur  $1 \mu 5$  à  $2 \mu 5$  de large. Mais ces dimensions varient beaucoup en raison de l'énorme pression en tous sens subie par ces éléments.

*Caractères botaniques.* — Filament non ramifié, large de  $2$  à  $4 \mu$ , qui se termine à une extrémité par une série parfois longue d'éléments cylindriques ou ovoïdes semblables aux conidies de *Fœidium lactis* Fr. Ces spores mesurent  $2 \mu 25$  à  $4 \mu 5$  de longueur. Quelquefois les spores bourgeonnent à la façon des levures et consistent par ce processus de nouvelles conidies.

Végète assez bien sur gélatine, pomme de terre. Cette dernière se pigmente en brun puis en noir.

**Trichosporum ovale**, UNNA, 1896. — UNNA a observé cette espèce dans la moustache et la barbe d'un jeune homme et a confié à TRACHSLER l'étude comparative de ce parasite avec celle du *Trichosporum ovoïdes*.

*In situ* : Les éléments sont régulièrement ovales, courts, aplatis les uns contre les autres dans les nodosités. Ils mesurent  $4,4$  à  $5 \mu$  de long sur  $2,5$  à  $3 \mu 5$  de large.

*Caractères botaniques.* — Filaments grêles, tortueux, courbés en tire-bouchon, de  $1$  à  $2 \mu 5$  de large. Les spores mesurent de  $2$  à  $3 \mu 5$  de long. Leur paroi est épaisse.

**Trichosporum Beigeli**, RABENHORST, 1867. — *In situ* les éléments des champignons examinés dans les nodosités du poil ont un diamètre compris entre  $2 \mu 4$  et  $4 \mu 5$ ; ils sont ovoïdes ou encore polyédriques, à angles arrondis par pression réciproque. VUILLEMIN qui a étudié cette espèce en donne les caractères

botaniques suivants : « Dans les cultures, le champignon se présente sous la forme de cellules arrondies, de 4 à 4  $\mu$  5 de large, qui s'isolent rapidement. Les cellules en s'allongeant donnent naissance à des filaments cloisonnés plus grêles (1,75 à 2  $\mu$ ) qui fournissent de courtes ramifications caduques pouvant être rectilignes ou se renfler en éléments ovoïdes. Dans les vieilles

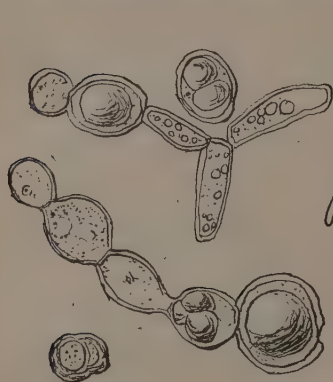


Fig. 35. *Trichosporum Beigeli* (d'après Vuillemin).



Fig. 36. *Trichosporum Beigeli*. Culture de 4 jours sur betterave. Étuve à 32° Grosissement 380 fois (d'après Vuillemin).

cultures on voit apparaître des chlamydospores isolées en séries terminales ou intercalaires (VUILLEMIN).

Se cultive bien sur gélatine et gélose. Colonies blanches centriformes. Dans la suite les cultures se recouvrent d'un fin duvet de farine.

SCHAECHTER a vainement essayé d'injecter les poils du cobaye avec des cultures du *Trichosporum Beigeli*.

*Trichosporum giganteum*. BEHREND, 1890. — BEHREND a désigné sous ce nom l'espèce propre à la *pedra de Colombie* dont DESENNE a donné une bonne description.

*In situ*. Éléments de nodosités polygonaux variant entre 12 à 15  $\mu$  régulièrement disposés par pile.

*Caractères botaniques*. — Les colonies sont formées de filaments de 10 à 60  $\mu$  de long, ceux-ci sont composés d'articles de 4 à 12  $\mu$  de long, tantôt cylindriques et de largeur uniforme

## Hyphomycètes parasites de l'homme (d'après BRUMPT).

GENRE	ESPÈCES	ROLE PATHOGÈNE
Glenospora	G. graphii	Otomycose. Keratomycose
Corethropsis	C. hominis	Gomme hypodermique
Monosporium	M. apiospermum	Mycose du pied
Sporotrichum	S. Schenki S. Beurmanni	Lymphangite chronique Gommes et lymphangites chroniques
Acremonium	A. Potroni	Gommes
Scopulariopsis	S. brevicaulis var. hominis S. Blochi	Onychomycose Gommes
Hemispora	H. stellata	Ostéite et gommes
Monilia	M. candida M. Balzeri	Muguet Blastomycose
Enantiothamnus	E. Braulii	Tumeurs ressemblant au molluscum
Hormodendron	H. Fontloynti	Dermatomycose achromique
Cladosporium	C. penicilloïdes	Ulcérations cutanées
Malassezia	M. furfur	Pityriasis versicolor
Pityrosporum	P. Malassezi	Pityriasis simplex capitis = pellicules.
Mycoderma	M. Immite M. Dermatitis M. Pulmoneum	Blastomycose Blastomycose Blastomycose
Madurella	M. Mycetomi M. Tozeuri	Mycetome noir de Carter Mycetome noir de Nicolle
Indiella	I. Mansoni I. Reynieri, etc.	Mycetome blanc du Manson Mycetome de Reynier
Trichosporum	T. Beigeli T. Giganteum, etc.	Trichosporie Piedra de Colombie

(1 à 4  $\mu$ ), tantôt étranglés en leur milieu, effilés à une extrémité ou renflés en un point. Les spores sont le plus souvent détachées des filaments, isolées ou réunies en amas, ou en chapelets de 2 à 6 éléments. Elles sont ovoïdes, rondes ou polyédriques de 4 à 5  $\mu$  sur 5 à 6  $\mu$ ; elles sont plus grandes sur gélatine et sur gélose; le mycélium est également plus long et plus ramifié.

*Cultures.* — Sur *gélose* la culture d'abord jaunâtre, puis poudreuse et blanchâtre prend l'aspect de paquets de petits vers entortillés; sur *gélatine* elle ressemble à une chenille blanche, sur bouillon, il se forme des touffes mycéliennes qui gagnent la surface du liquide et y forment un voile épais, ridé, bientôt poudreux.

Autres variétés de *Trichosporum* :

*Trichosporum Krusi* CASTELLANI, 1908.

*Trichosporum Foxi* CASTELLANI, 1908.

*Trichosporum glycopile* DU BOIS, 1910.

#### *Oidium* LINK (1).

Filaments stériles couchés. Filaments fertiles simples et se terminant par un chapelet de spores. Spores incolores ou pâles, assez grandes tombant rapidement.

Les espèces de ce genre sont parasites sur les végétaux phanérogames. Certaines d'entre elles ont pu être rattachées à des champignons ascospores.

*Oidium subtile cutis* (*Oidium subtile* BLANCHARD, 1895. — BABÈS (2) a décrit sous le nom de *Oidium subtile cutis* (*Oidium subtile* BLANCHARD 1895) un champignon qu'il avait observé sur des ulcères chez une femme.

Ces ulcères étaient recouverts par une végétation constituée par des filaments serrés et parallèles, droits, les uns homogènes, les autres segmentés mesurant 6  $\mu$  de diamètre. Ces filaments se divisaient par dichotomie et se continuaient en s'épanouissant en des filaments terminaux libres. Ceux-ci donnaient naissance à des conidies allongées, ovoïdes, quelquefois en forme de biseau. Ces spores en germant reproduisaient le même mycélium.

---

(1) LINK *Spécies Hyph. et Gymn.* I p. 122.

(2) BABÈS : Ein neuer pathogener Schimmel pilz; *Biol. C. Bl.*, II, No 18, 1882, p. 569.

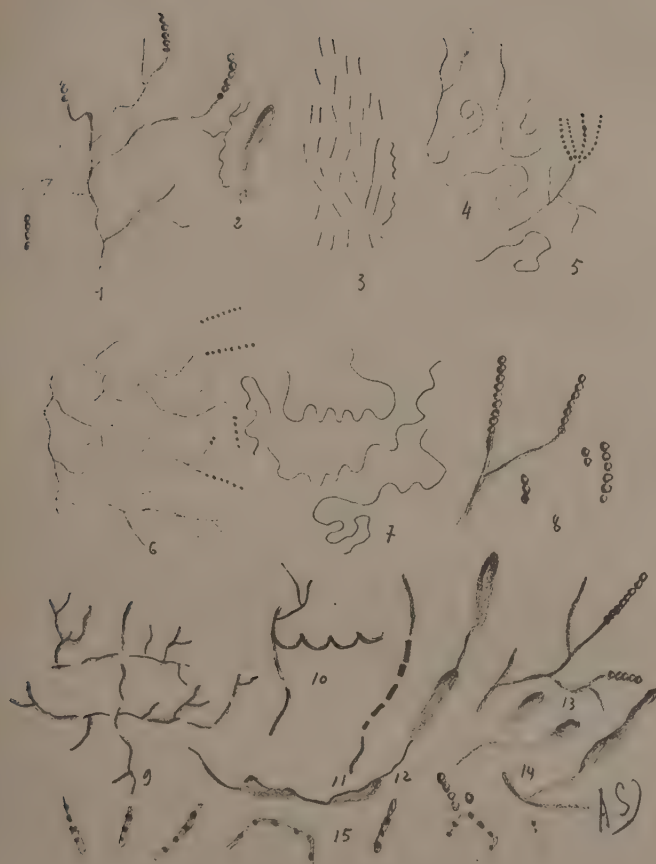


PLANCHE V,

1 *Oospora pulmonalis* conidies, 2 forme en massue, 3 Dissociation des filaments en amas bacillaire, 4 tortillons, 5 organe larsiforme, 6 *Oospora buccalis*, 7 tortillons, 8 formes conidiennes, 9 *Oospora bronchialis*, 10 forme pectinée, 11 arthrospores, 12 chlamydospores, 13 formes conidiennes, 14 massues, 15 granulation des filaments.

BABÈS a réussi à transplanter ce champignon sur le lapin et à reproduire chez celui-ci, après 3 à 5 jours, des ulcères analogues à ceux qu'ils avaient observés chez la femme. *L'examen microscopique* de ces ulcères expérimentaux montra la présence du champignon inoculé tel qu'il existait dans les ulcères de la femme.

Il est douteux que le champignon signalé par CLOZEL DE BOYER et d'ANTIN (1) fut l'*Oidium subtile*. Ces auteurs avaient étudié chez des enfants cachectiques atteints d'affections pustuleuses un microphyte qu'ils avaient rattaché au genre *oidium*. L'insuffisance de leur description empêche toute identification. Les spores sont abondantes, peu volumineuses, piriformes et munies d'une sorte de cil terminal!

### Oospora WALLROTH 1833.

Mycelium formant un feutrage peu serré ou au contraire des coussinets plus ou moins compacts. Conidiophores courts, cylindriques, délicats, terminés par une chaînette de petites conidies globuleuses ou ovoïdes, hyalines ou de couleur claire.

Nous les divisons avec GUÉGUEN en deux sections :

#### 1° Fragiles.

Mycelium de calibre inférieur ou au plus égal à 1  $\mu$ , ramifié avec des cloisons hyalines épaisses, inégalement distantes, se sectionnant en articles facilement dissociables. Extrémités périphériques du thalle épaississant parfois leurs membranes en massues soit dans le corps de l'hôte, soit sur des milieux de cultures d'origine animale. Dans ce groupe nous rangeons :

L'*Oospora bovis* SAUVAGEAU et RADAIS (*Actinomyces bovis* HARZ; *Discomyces bovis* RIVOLTA. *Nocardia actinomyces*. DE TONI et TRÉVISAN.

L'*Oospora Maduræ*, l'*Oospora Israeli*, l'*Oospora Forsteri*, l'*Oospora Pumonalis*, l'*Oospora buccalis*, l'*Oospora bronchialis*, l'*Oospora lingualis*, etc... (Pl. V)

2° Solidae Mycelium de calibre supérieur à 1  $\mu$ , cylindrique, très nettement cloisonné, non dissocié dépourvu de massue et produisant habituellement des conidiophores sur le corps même de l'hôte. Exemple: *Oospora pulmoneum*, *Oospora destructor*, etc.

(1) De BOYER et d'ANTIN : Note sur un parasite végétal de genre *oidium* observé à la surface de quelques affections pustuleuses chez les enfants. *Le Progrès Médical* IX, 1881, p. 1025.



**Oospora bovis.** Syn. *Actinomyces bovis* H. *Discomyces bovis* R.

— Dans les lésions, le parasite se rencontre sous forme de petits grains du volume d'un grain de pavot à celui d'un grain de millet. Chacune des granulations est formée par la réunion en disposition rayonnée des éléments du parasite. La zone périphérique de la granulation est constituée par des éléments en forme de massue allongée dont la partie renflée est dirigée vers le dehors. Leur longueur est de 15 à 20  $\mu$ , d'autres atteignent 80  $\mu$ , leur largeur oscille entre 8 et 10  $\mu$ . Elles sont simples ou rameuses, ou présentent des étranglements. La partie centrale est formée de filaments auxquels se mêlent des éléments ronds de 7 à 10  $\mu$  de diamètre, dont l'aspect rappelle celui des massues. Quant aux cultures sur divers milieux, l'aspect des filaments obtenus ressemblent à ceux des *oospora* en général. Leur largeur varie de 0,3 à 0,5  $\mu$ . On y voit des ramifications qui s'y développent à la façon ordinaire et on y voit jamais de massues véritables, tout au plus des renflements. Des arthrospores peuvent se produire sur certains milieux.

**Culture.** — Végète bien sur les milieux habituels, soit en aérobie ou en anaérobie. *Gélatine* : Liquéfie la gélatine mais très lentement. Colonies arrondies, floconneuses, d'un blanc jaunâtre atteignant 1 à 2 millimètres de diamètre.

*Gélose.* — Petites taches opaques, blanchâtres ou blanc jaunâtre. Ces colonies peuvent confluer entre elles, et restent alors petites atteignant en moyenne 1 millimètre de diamètre. Ce sont de minuscules taches grises ou gris jaunâtre fortement adhérentes à la gelée.

*Sérum coagulé.* — Petites colonies rondes, assez bombées, isolées, qui prennent au bout d'un certain temps les caractères des cultures sur gélose. *Pomme de terre.* D'abord isolées, membraneuses, circulaires les colonies confluent en une pellicule gris jaunâtre qui se ride et se plisse fortement et se recouvre d'une efflorescence blanche ou un peu jaunâtre, parfois jaune citron, parfois jaune rosé, d'autre fois noirâtre. La *pomme de terre* se colore en brun souvent très foncé. *Bouillon.* Petits flocons blanchâtres, sphériques en forme de houppe qui tombe au fond du vase. *Lait* : Pas de coagulation, mais se peptonise lentement et devient transparent au bout d'un certain temps. *Pathogène pour l'homme, le bœuf.*

**Oospora pulmonalis.** ROGER SARTORY, BORY. — Isolé chez un malade en traitement à l'hôpital de la Charité et semblant atteint de tuberculose pulmonaire. Filaments allongés formant des sortes de lignes brisées dont chaque angle est occupé par un espace très clair. Ces filaments mesurent  $0\ \mu,4$  à  $0\ \mu,5$  de large. Leur longueur est variable; elle peut atteindre 1 mm.  $1/2$ . Filaments immobiles, peu enchevêtrés les uns dans les autres, portant des ramifications latérales irrégulièrement distribuées. Dans les vieilles cultures, on voit fréquemment un certain nombre de filaments se terminer par des renflements en massue ou encore une segmentation des filaments en bâtonnet simulant de petits amas bacillaires. Il y a aussi formation d'arthrospores, quelques rares tortillons et présence d'organes tarsiformes. Les conidies en chaînettes mesurent chacune  $0\ \mu,9$  de diamètre. *Pathogène pour le cobaye.* (Planche V, fig. 1, 2, 3, 4 et 5).

SARTORY a décrit une variété d'*Oospora pulmonalis* acido-résistante en 1916 et une variété sécrétant un pigment rouge.

**Oospora buccalis.** ROGER SARTORY et BORY. — Espèce rencontrée chez un malade atteint de stomatite crémeuse et d'abcès amygdalien. Le parasite se trouvait à l'état de pureté dans le pus de l'amygdale et dans les plaques et les grains blancs de la bouche.

Filament de longueur variable, de  $0\ \mu,7$  à  $0\ \mu,8$  de large, droits. En vieillissant ils affectent un aspect onduleux. Les ramifications latérales sont irrégulièrement distribuées. Vers le 14<sup>e</sup> jour apparaissent les appareils reproducteurs qui prennent naissance par le processus habituel. Formation d'arthrospores. Pas de tortillons ni d'organes tarsiformes. (Planche V, fig. 6, 7 et 8).

Roger et Sartory en ont décrit 4 variétés. Pathogène pour le cobaye.

**Oospora bronchialis.** SARTORY-LASSEUR. — Nous avons isolé cette espèce chez un militaire suspect de tuberculose pulmonaire venant du front (décembre 1915) service du médecin-major de 1<sup>re</sup> classe Hecquin à Nancy.

L'*Oospora bronchialis* présente les caractères microscopiques suivants :

Filaments mycéliens, formant souvent des lignes brisées dont chaque angle est occupé par un espace clair; ces filaments sont souvent tortueux, très ramifiés, d'une largeur variant entre  $0\ \mu,4$  à  $0\ \mu,5$ . Leur longueur est variable et peut atteindre 2 millimètres.

Les filaments sont immobiles, très enchevêtrés les uns dans les autres. Ils portent des ramifications latérales régulièrement distribuées. Ces ramifications prennent naissance sur les côtés du filament principal sous forme d'un petit mamelon, arrondi à son extrémité, qui grandit et donne un prolongement cylindrique identique aux précédents. Certaines ramifications se terminent en une massue unique, d'autres se ramifient à leur tour pour donner deux ou trois formes renflées, d'autres encore adoptent une forme spéciale pectinée, d'autres enfin sont légèrement spirales. Assez souvent, dans cette espèce, les formes ramifiées ressemblent assez bien à celles des cornes du cerf [forme en corne de cerf].

Sur le trajet de certains filaments principaux, nous remarquons des chlamydospores en forme de boudin ou des arthrospores; arthrospores et chlamydospores peuvent germer, elles sont de dimensions variables.

Les appareils conidiens prennent naissance à l'extrémité libre d'un filament qui s'allonge et se renfle de façon à constituer une petite massue dont la base se sépare de la tige mère par une cloison. Le même phénomène se reproduit à plusieurs reprises, il s'ensuit la constitution d'une chaînette de conidies dont les éléments mesurent en moyenne 0  $\mu$  6. Un même filament principal peut porter deux et même trois chaînettes conidiennes (formes en pinceaux). Tous ces caractères permettent de ranger ce champignon dans le genre *Oospora* de WALLROTH. Il diffère des *Oospora* pathogènes déjà connus par l'ensemble de ses caractères morphologiques et biologiques. (Planche V, fig. 10 à 15).

Nous attirons tout spécialement l'attention sur les formes en tire-bouchon, les chlamydospores, les formes en cornes de cerf et les formes pectinées si fréquentes chez certaines gymnoascées (teignes, etc.). Ces faits ont déjà été signalés par GUEGUEN pour une autre espèce, *O. linguæ pilosæ*.

#### CARACTÈRES BIOLOGIQUES ET CULTURAUX DE L'« OOSPORA BRONCHIALIS »

Il est très difficile de cultiver l'*Oospora bronchialis*. Sur les milieux solides usuels employés en bactériologie, carotte, pomme de terre, pomme de terre glycinée, pomme de terre acide, banane, gelée d'amidon, gélose ordinaire, gélose galactosé, saccharosé, gélatine ordinaire, décoction de fruits gélifiée ou gela-

tinée, navet, topinambour, artichaut, Raulin gélatiné, le parasite ne végète pas. Il en est de même sur les milieux liquides ordinaires, bouillon de viande, eau de levure, bouillon saccharosé ou galactosé, liquide de Raulin neutre ou acide. L'addition de maltose à ces milieux provoque un développement plus ou moins luxuriant de l'*Oospora*. Les milieux de choix sont le bouillon maltosé, le bouillon pepto-glycériné glucosé maltosé, le milieu de SABOURAUD. Viennent ensuite le bouillon pepto-glycériné-glucosé, la décoction de malt. Légère poussée dans le bouillon lactosé. L'*Oospora bronchialis* provoque une légère fermentation du glucose, et du maltose. Il décolore légèrement le milieu au rouge neutre (milieu de SAVAGE).

Sur bouillon maltosé, l'*Oospora bronchialis* pousse en trente-six heures. De longs filaments très fins et de longueur inégale sont le début du développement de ce champignon. Au bout de cinq ou six jours, ces filaments se sont encore allongés et beaucoup apparaissent branchés en T ou en Y les uns sur les autres. Ils restent colorés par la méthode de GRAM. En culture en goutte pendante et sur même milieu, les appareils conidiens apparaissent du vingt-cinquième au trentième jour.

Sur gélose maltosée ou sur milieu de SABOURAUD, les colonies apparaissent au bout du sixième jour (température de  $+ 37^{\circ}$ ). Elles se présentent sous forme de petits points blancs luisants à bords irréguliers, mesurant de  $1/2$  à 1 mm. au plus de circonférence. Le treizième jour les colonies grandissent légèrement, elles sont mamelonnées et bombées au centre. Ces colonies restent isolées et leur diamètre ne dépasse pas 2 mm. Les bords sont de plus en plus irréguliers, la couleur passe au blanc crème le vingt-quatrième jour (apparition des appareils conidiens).

Dans le sérum liquide, culture à peine appréciable.

**Agglutination.** — La réaction agglutinante a été essayée sur une culture âgée de quarante-huit heures et rendue homogène par de fréquentes agitations. Le résultat a été négatif, alors même que le sérum n'avait été dilué qu'au  $1/10$ .

**Fixation du complément.** La réaction de fixation a été positive.

**Pouvoir pathogène.** L'*Oospora bronchialis* s'est montré pathogène pour le cobaye et le lapin.

## Oosporoses.

Bouche et pharynx	{ Stomatite crémeuse à grains nacrés. { Oosporose linguale (?) (langue noire).	{ <i>Oospora buccalis</i> { <i>Oospora Foersteri</i> { <i>Oospora lingualis</i>
Appareil pulmonaire	{ Oosporose pulmonaire ou bronchopneumonaire oosporique.	{ <i>Oospora pulmonalis</i> { <i>Oospora pulmonalis chromogène</i> { <i>Oospora bronchialis</i> { <i>Oospora pulmonalis acido-résistant</i>
Œil	{ Dacryocystite oosporique. { Conjonctivite oosporique.	{ <i>Oospora Foersteri</i> { <i>Oospora aurea</i> { <i>Oospora luteola</i>
Divers organes	{ Oosporoses généralisées aux abcès cérébraux (méningite cérébro-spinale oosporique.	{ <i>Oospora asteroides</i>

## Mycetomes oosporiques.

*Oospora bovis*, *O. Israeli* = Mycetome actinomycosique.

*Mycoderma Tozeuri* = Mycétome à grains noirs de Ch. NICOLLE et PINOY.

*Oospora Ponceti*  
*Oospora liquefaciens*  
*Oospora Garteni*

} Mycétome à grains jaunes ou pseudo actinomycosique.

*Oospora Maduræ* | Mycétome à grains blancs de VINCENT.

*Oospora Freeri*  
 } Mycétome à grains blancs de MUSGRAVE et CLEGG.

*Oospora brasiliensis* | Mycétome à grains blancs de LINDENBERG.

## TROISIÈME PARTIE

---

### CHAPITRE XIX

---

#### MÉTHODES ET TECHNIQUES A EMPLOYER SUIVANT L'ESPÈCE DE CHAMPIGNON A EXAMINER

##### 1<sup>o</sup> Oomycètes.

##### VAMPYRELLACÉES

##### Technique pour les Vampyrellacées.

Les Vampyrellacées sont toutes parasites soit des végétaux (Algues en particulier), soit des animaux.

On peut aisément se procurer des Vampyrellacées en examinant au microscope des plantes aquatiques, notamment des algues filamenteuses. Les Vampyrellacées (*Haplococcus*) qui vivent dans les tissus animaux sont justiciables de la même technique que tous les parasites intra-tissulaires (fixation par le sublimé; le picroformol, le Flemming, etc., coloration par les couleurs d'aniline très étendues). Les cils des zoospores se fixent soit par l'eau iodée, soit au moyen de l'acide osmique en solution ou en vapeurs.

##### CHYTRIDIACÉES

##### Technique pour les Chytridiacées.

Les Chytridiacées peuvent être étudiées par les mêmes

méthodes d'examen et de culture que les Vampyrellacées et les Saprolegniacées. (Voir pages 198 et 207).

DE BARY, WORNIN et d'autres auteurs ont pu cultiver certaines chytridiacées sur de minces organes de plantes supérieures (spores de lycopode, pollen de Conifères, de Typha, etc.) répandus sur de l'eau de mare ou de fossé, préalablement filtrée au papier.

## MUCORINÉES

### Technique pour les Mucorinées.

#### *Récolte de Mucorinées.*

Les Mucorinées sont parmi les moisissures les plus répandues. Elles existent, au moins à l'état de spores, un peu partout, dans les poussières de l'air, sur toutes sortes de matières organiques en décomposition et comme les conditions de leur développement sont faciles à réaliser on peut très aisément les récolter. C'est sur les excréments de divers animaux que l'on isole généralement beaucoup de Mucorinées. Il suffit de laisser sous une cloche à l'humidité, des excréments de cheval par exemple; au bout de quelques jours il s'y développe des végétations luxuriantes, quelquefois très riches en espèces.

Comme le fait si justement remarquer LENDNER les excréments ne sont pas tous également riches en Mucorinées. Il a remarqué qu'une très grande différence existe entre leur animaux herbivores et carnivores. Tandis que sur les excréments des premiers, la végétation est aussi variée qu'abondante (lapin, cobaye, cheval, bœuf) il n'en est pas de même de ceux des seconds. Chez les carnivores les bactéries de la putréfaction entravent quelquefois complètement le développement des champignons.

D'autres matières animales telles que la viande, laissent développer des Mucorinées intéressantes.

Les matières végétales constituent des milieux très favorables. LENDNER a mis sous cloche à l'humidité, de nombreuses matières organiques telles que : riz, thé, café, cacao, réglisse, althae, écorces et rhizomes divers. Partout les Mucorinées apparaissent souvent accompagnées d'autres moisissures (*Penicillium*, *Apergillus*, etc.).

Les fruits en décomposition sont des milieux de choix pour la culture des Mucorinées.



LENDNER s'est servi avec avantage des terres de forêts, des limons de marécages ou de rivière. Pour obtenir de ces terres les moisissures qui y pullulent, il faut en prendre des particules que l'on inocule dans des milieux nutritifs appropriés comme nous l'indiquons ci-dessous.

*Culture de mucorinées.* — Les Mucorinées se cultivent d'ordinaire facilement sur les macérés, infusés ou décoctés de substances végétales, sur des décoctions de pains, de crottin, de matières amylacées, sur liquide de Raulin sucré ou glucosé et en général sur les milieux nutritifs sucrés et acides. Tous ces liquides peuvent être rendus solides par la gélatine, la gélose ou le carragheen. On obtient également de bons résultats avec les milieux usuels, tels que pommes de terre, carottes, navets, topinambours, etc. cuits et stérilisés. BAINIER recommande l'emploi de racine de réglisse et de la farine de lin.

*Culture en chambre humide.* — La méthode de culture en chambre de RANVIER est indispensable pour l'observation de la germination, de la formation du mycélium et des zygospores. Il faut se garder cependant de prendre comme type pour la détermination une espèce cultivée dans ces conditions, car le peu de matières nutritives, le manque d'oxygène, entravent la croissance et donnent naissance à des modifications très sensibles.

On peut déjà constater de pareilles modifications dans des cultures ordinaires en vases d'Erlenmeyer.

La cause en est due à l'état de gélification du milieu. Si ce dernier est trop solide, le champignon a de la peine à pousser, les sporangiophores restent courts; si au contraire, il est trop mou par suite d'une stérilisation au-dessus de 110°, ou à cause de la chaleur de l'été, la culture se comporte comme en milieu liquide et le mycélium est parfois seul à se développer.

Il en résulte que le plus grand soin doit être apporté à la confection des milieux de culture et à leur stérilisation. La température influant aussi sur le développement des cultures, il convient de les maintenir à la température uniforme de 15 à 18° (LENDNER).

#### Méthodes d'inoculation des terres (LENDNER).

On peut se servir comme milieu d'inoculation soit du moût

---

Voir dans la thèse de Barthelat 1903, les renseignements sur les milieux et les méthodes à employer.

gélatinisé en tubes ou en vases d'Erlenmeyer, soit du pain humide. C'est ce dernier substratum qui paraît le plus avantageux. LENDNER prépare dans des vases de Pétri, du pain stérilisé à 120° en présence d'une quantité d'eau telle que le milieu reste solide après refroidissement. Ces récipients enveloppés du papier buvard dans lequel ils ont été stérilisés ne sont ouverts qu'au dernier moment. Lors de l'inoculation LENDNER prélève des particules terreuses à l'aide d'une allumette flambée qui tient lieu de fil de platine. Les récipients sont ensuite soigneusement enveloppés du papier stérilisé et conservés dans une boîte *ad hoc*.

La surface plus grande que présentent les boîtes de Pétri, ainsi que la faculté que l'on a de les empiler, leur assure un avantage incontestable sur d'autres récipients.

#### Méthode de sélection pour les Mucorinées.

La meilleure méthode de sélection pour les Mucorinées est celle que préconise Hansen pour les levures. Elle consiste, après dilution convenable (qui ne doit pas être trop forte) dans du moût gélatinisé encore liquide, à porter une goutte de la dilution sous le couvre-objet, préalablement flambé, d'une chambre de Ranvier, puis à rechercher au microscope une spore qui sera l'initiale de la colonie.

#### Obtention des Zygosporos.

Les zygosporos sont assez difficiles à obtenir et les conditions pour leur formation varient d'une espèce à l'autre. En mars-avril, il n'est pas rare d'en observer dans les cultures en masse sur crottin de cheval.

Ranvier a indiqué un procédé qui permet de les obtenir assez aisément en tout temps : il ensemence quelques gouttes de jus de pruneaux concentré, stérilisé et additionné d'alcool à 10-20 p. 100. La culture se fait en cellule.

#### Coloration.

Pour éviter la diffuence des sporanges qui se produit au contact de l'eau, on devra examiner les espèces soit à sec et directement au travers des parois des boîtes ou des tubes de culture en employant des objectifs à long foyer, soit après dissociation

dans l'alcool ammoniacal (alcool à 90° ou absolu additionné de 1/10 en volume d'ammoniaque concentrée). Les détails (cloisons, etc.) seront étudiés au bleu lactique.

Pour étudier les lésions, les tissus, fixés par le sublimé acétique, seront inclus dans la paraffine, et les coupes colorées par le carmin, le bleu d'aniline, la thionine, la safranine anilinée, puis le bleu de LÖFFLER, le bleu de toluidine avec coloration du fond à l'éosine, et surtout le rouge de ruthenium préconisé par BARTHELAT comme supérieur à tous les autres colorants.

#### Recherche des Mucorinées parasites au sein des lésions.

La recherche des Mucorinées parasites au sein des lésions peut se faire d'après divers procédés. Quand le champignon a donné naissance à des colonies filamenteuses assez nettement délimitées au milieu des tissus, on peut l'isoler, en dissocier les filaments et examiner après l'addition d'une goutte d'acide acétique ou après l'action de la potasse caustique. On peut aussi obtenir la coloration en faisant agir une solution faible d'hématoxyline pendant 10 à 20 heures. Le bleu de méthylène et le violet de gentiane conviennent également. Les solutions carminiques et en particulier le carmin boraté fournissent des colorations faibles et le plus souvent irrégulières.

Pour étudier l'envahissement des organes par le parasite il faut recourir à la méthode des coupes, qu'on colore fort bien avec le mélange d'hématoxyline-éosine.

#### Règles à suivre dans la détermination des Mucorinées.

Les caractères auxquels on doit recourir pour une détermination chez les Mucorinées sont souvent instables, mais il conviendrait de toujours tenir compte :

1° *Ramifications*. — La présence ou l'absence de ramifications et la forme de celles-ci sont des choses plus difficiles à constater qu'on ne se l'imagine ordinairement. Pour s'assurer de l'absence de ramifications, il faut examiner non seulement un certain nombre de sporangiophores, mais s'assurer qu'il ne s'en trouve pas de plus petits, près du substratum; ceux-ci présenteront alors des ramifications bien typiques.

2° *Stolons*. — Il sera indispensable de noter la présence ou

l'absence de stolons; si ils existent noter leur disposition sur le thalle et l'insertion des sporanges par rapport aux stolons.

3° *Crampons*. — L'existence de crampons nous guidera pour la classification.

4° *Hauteur du sporangiophore*. — Ceci est un caractère d'une très grande importance. Le milieu a une influence sur la hauteur des filaments sporangifères. Il convient donc de ne déterminer une espèce qu'en partant d'une culture représentant pour ces champignons les conditions les plus favorables à sa complète exubérance. Le moût gélatinisé (10 p. 100) et mieux le vin blanc privé d'alcool et gélatinisé à 10 p. 100, conviennent très bien.

4° *Mensurations*. — Avant de procéder à la détermination, il est nécessaire d'opérer les mensurations suivantes :

1° Hauteur du sporangiophore (elle est indiquée par la hauteur du gazon d'une culture âgée d'au moins 8 jours à la température de 15°). 2° Son épaisseur. 3° Le diamètre du sporange, pris sur les sporanges de la grandeur la plus fréquente. 4° La longueur et la largeur de la columelle. 5° Le diamètre moyen des spores ou leur longueur et largeur moyennes. 6° Le diamètre des zygos-pores et des chlamydospores.

La mensuration d'un certain nombre de chacun de ces organes est indispensable.

5° *Différence de la membrane*. — Elle peut varier dans une même culture, selon les espèces examinées. On désignera comme diffuente une membrane qui disparaît dans la plupart des sporanges. Dans ce cas, si l'on veut mesurer ces derniers, il faut s'adresser à des cultures très jeunes, ou placer l'échantillon prélevé dans un mélange approprié d'eau et de glycérine.

Si la membrane est indiquée comme devant se déchirer en morceaux, il faut avoir soin de rechercher ceux-ci dans toute la préparation

6° *Columelle*. — Leur grandeur ainsi que leur forme variant avec la dimension des sporanges, il est nécessaire d'en tenir compte. Vérifier également la présence de la collerette, l'adhérence du bas de la columelle avec la membrane, et finalement la présence ou l'absence d'aspérités à la surface de la membrane.

7° *Spores*. — On dit que les spores sont rondes quand ces

dernières sont en majorité rondes, les spores subsphériques étant une rareté. Un mucor chez lequel on constate un mélange de spores rondes et ovales est classé parmi les mucors à spores ovales. On ne tiendra compte de l'inégalité des grandeurs que lorsque celle-ci sera bien manifeste et non pas exceptionnelle. *Pour s'assurer de la couleur il convient d'examiner les spores entassées et de diminuer l'éclairage du microscope.*

8° *Zygospores*. — Le caractère des zygospores n'est pris en considération que dans le cas où celles-ci se forment facilement et assez constamment comme par exemple chez *Mucor Mœlleri*, *Mucor hétérogamus*, etc.

9° *Chlamydospores et gemmes*. — Pour les constater, on doit s'adresser le plus souvent à des cultures âgées de 15 jours et plus, soit en milieux solides, soit en milieux liquides sucrés. Dans ces derniers surtout, certains Mucors produisent des *gemmes* bourgeonnantes en levures très caractéristiques. Ces formations sont souvent accompagnées d'une fermentation alcoolique.

#### Valeur du pouvoir pathogène des Mucorinées.

Il faut pour déterminer la valeur du pouvoir pathogène des Mucorinées recourir à la méthode expérimentale. Les spores peuvent être introduites dans l'organisme par des voies différentes.

1° *Voie intra-veineuse*. Méthode de choix. Les animaux succombent dans un temps variant entre 1 à 6 jours si l'espèce est pathogène.

2° *Voie intra-péritonéale*. On provoque ainsi des accidents se traduisant par une infection généralisée. La mort est plus tardive.

3° *Voie trachéale*. Procédé peu recommandable.

4° *Voie digestive*. On ne provoque pas d'accidents en introduisant des spores pathogènes dans le tube digestif.

6° *Voie sous-cutanée*. Parfois on obtient par ce procédé des phénomènes de suppuration locale.

*L'animal de choix est le lapin.*

*Lésions provoquées*. — Dans les mucormycoses provoquées

l'organe le plus souvent atteint est le rein, puis les muscles striés, le foie, les poumons, le cœur, la rate et l'intestin. Au début, les lésions anatomo-pathologiques ressemblent à celles de l'aspergillose. Mais cependant il faut noter que dans les cas des mucormycoses on ne constate ni réaction phagocytaire, ni prolifération bien nette des cellules fixes, ni d'amas de cellules à type embryonnaire, ce qui peut se traduire par l'absence de réaction de défense de l'organisme. Nous ne constatons jamais de granulations pseudo-tuberculeuses mais nous assistons à des phénomènes de nécrose et de congestion.

#### Etude du pouvoir pathogène des Mucorinées.

L'expérimentation et les observations cliniques nous montrent que parmi les mucorinées, il n'y a qu'un petit nombre d'espèces possédant réellement un pouvoir pathogène. L'origine de cette propriété nocive est encore assez obscure. Cependant les travaux sur ce sujet nous conduisent à penser que :

1° La virulence d'une Mucorinée est en raison inverse de la dimension de ses spores. Celles qui ont des spores dont le calibre est compris entre 2 et 6  $\mu$ , c'est-à-dire est inférieur au diamètre d'une hématie 7  $\mu$  5 sont susceptibles d'être pathogènes.

2° Il y a forcément une relation entre le pouvoir pathogène et la température optima de croissance, les espèces pouvant être nocives poussent entre + 36 et 40° centigrades.

3° Les petites spores, c'est-à-dire celles qui sont susceptibles d'être virulentes, se laissent mouiller facilement par les liquides qui les véhiculent. Nous ne constatons pas ce fait parmi les grosses spores.

4° L'intensité des accidents morbides est proportionnelle au nombre de spores injectées.

5° On semble peu renseigné sur la production des toxines des Mucorinées. On pense que les éléments anatomiques sont lésés par l'action des substances diastasiques qu'elles sécrètent pour l'assimilation des matériaux nutritifs (BODIN, SAVOURE).

6° Les tentatives d'immunisation par l'emploi des spores atténuées par la chaleur (ZIEGENHORN, LUCET et COSTANTIN, n'ont donné aucun résultat.



## ENTOMOPHTORACÉES

### Technique pour les Entomophthoracées.

Les Entomophthoracées vivent principalement sur les Insectes. Toutefois quelques-unes parasitent les végétaux ou même vivent en saprophytes (*Basidiobolus* des excréments de batraciens, etc.)

Les Entomophthoracées parasites des insectes envahissent tout l'intérieur du corps de ces animaux, pénétrant jusque dans les pattes, les antennes et même les nervures principales des ailes. Le thalle distend le corps de l'animal et ne fait saillie extérieurement que par ses conidiophores (*Empusa*); ailleurs il émet des hyphes qui enveloppent le cadavre d'une sorte de suaire cotonneux ou même envoient sur les corps voisins des crampons ramifiés qui font adhérer au substratum le corps momifié de l'animal (*Entomophthora*).

On peut faire germer dans l'eau les conidies de quelques espèces, mais la culture en milieux artificiels ne semble pas avoir été réalisée jusqu'à présent. Le pouvoir germinatif paraît d'ailleurs se perdre rapidement. Au dire de BREFELD, les conidies d'*Empusa Muscae* et d'*Empusa radicans* ne germent plus après huit jours. Il en est de même d'après GIARD, pour celles d'*Empusa saccharina*. Il faut donc se contenter d'observer les insectes naturellement ou artificiellement et conservés dans de petites chambres humides. Les inoculations elles-mêmes réussissent assez mal.

L'examen microscopique peut s'opérer directement, soit sur des matériaux frais, soit sur des échantillons d'herbier. On pourra également après fixation des animaux entiers par l'alcool formolé ou bichloruré, les inclure à la paraffine, pratiquer des coupes au microtome, et traiter par les couleurs d'aniline. Les conidiophores s'étudieront facilement après fixation à l'alcool absolu et coloration au bleu lactique (GUEGUEN).



## SAPROLÉGNACÉES

### Technique pour les Saprolégnacées.

Les Saprolégnacées vivent soit en saprophytes, soit en parasites sur des plantes ou des animaux. Aucune d'elles ne paraît être un parasite nécessaire, et la même espèce, comme nous le verrons, peut être soit saprophyte sur matières végétales, soit parasite sur végétaux ou animaux.

Ces champignons habitent de préférence les eaux courantes. On les rencontre fréquemment sur les poissons et les écrevisses, principalement sur ceux de ces animaux qui vivent dans les cours d'eau contaminés par des matières végétales ou animales déchetés des usines de papeterie, de corroierie, etc., ou dans les aquariums mal tenus.

Lorsqu'on suit attentivement sur un poisson les progrès du mal, on remarque que l'envahissement commence par le pourtour de la bouche, puis gagne le pharynx et les branchies et enfin, s'étend sur les téguments, spécialement dans la partie rétrécie du corps, de l'anus à la nageoire caudale.

*Cultures des Saprolégnacées.* — Les Saprolégnacées se cultivent facilement sur des cadavres d'insectes (mouches, chenilles, vers de farine, etc.) mis à macérer dans l'eau. La germination des œufs au contact de pattes de mouches pourrissantes fut aussi observée pour la première fois par PRINGSHEIM. DE BARY, MURRAY, recommandent dans le même but les larves de mouches; CORNU a recours aux pucerons, aux vers de farine; FISCHER emploie les larves d'éphémères.

Les observations microscopiques se font en déposant le cadavre sur un porte-objet excavé ou dans un petit verre de montre, avec de l'eau bien propre. Dans l'intervalle des observations, il est nécessaire, d'après CORNU, de remettre l'objet dans un aquarium.

On peut quelquefois avoir recours comme milieu de culture à

des miettes de pain ou de biscuit de munition dont on enlève avec des aiguilles un très petit fragment portant le champignon, ce qui permet de réaliser des cultures en chambre humide.

On a recommandé aussi le liquide obtenu en broyant des mouches dans l'eau commune, que l'on filtre ensuite à la bougie (Procédé de Trow).

Maurizio préconise un certain nombre de milieux artificiels (décocté préparé avec un ver de farine et 100 centimètres cubes, d'eau; décocté de larves de fourmis; solution à 5 % d'extrait Liebig additionné d'égale proportion de peptone; bouillon de viande; solution de gélatine; eau albumineuse à 5 ou 15 % coagulée.

Radais se sert de morceaux de viande de bœuf ou de veau placés dans l'eau courante, ou bien de pomme de terre cuite, ou de plaques de porcelaine poreuses imbibées de solution nutritive (bouillon peptonisé à 10 % étendu de son volume d'eau, puis additionné de 5 gouttes d'acide lactique pour 10 centimètres cubes (cette acidification gêne le développement des bactéries. Pour obtenir la formation des organes il ne faut pas se servir de milieux trop riches en matières nutritives; l'emploi de bouillon très étendu ou la culture prolongée sur très petits insectes paraissent tout indiqués.

La fixation en vue des études morphologiques ou cytologiques pourra se faire au sublimé corrosif, au picroformol, au Flemming fort. Marcus Hartog fixe les matériaux au sublimé, puis lave à l'eau et à l'alcool absolu. Il colore au carmin boracique de Naples et décolore par l'alcool acidulé, par l'acide acétique. On réussit souvent dit-il en traitant préalablement par une solution de nigrosine très faiblement acidulée. On moule les préparations dans un mélange à parties égales de sulfophénate de zinc et de glycérine, ou dans le baume ou dans l'essence de santal citrin. Radais a obtenu les meilleurs résultats avec différenciation et conservation, des teintures au rouge congo. Pour de simples observations morphologiques l'examen par le bleu lactique donne de bons résultats.

Saturée d'éosine et légèrement salée (procédé de Thasles). On fait pénétrer ce liquide par diffusion pour ne pas rattatiner les échantillons. On monte au bitume de Judée, ou mieux avec de la cire à cacheter ramollie dans l'alcool.

## CHAPITRE XX

---

### 3° ASCOMYCÈTES

#### Technique pour les levures diverses. (1)

Supposons que nous isolions une levure, il faut maintenant savoir la différencier d'une autre espèce, il est donc nécessaire de connaître la marche à suivre pour caractériser l'espèce isolée : 1° Si l'on a affaire à une espèce déjà décrite et en ce cas à quel genre et à quelle espèce. 2° Si l'on a affaire à une espèce nouvelle et dans ce cas étudier complètement l'organisme par les procédés que nous verrons dans un instant. Certes la tâche n'est pas facile et mérite d'être expliquée en détail.

Il est fort difficile de trouver dans la morphologie des levures des caractères différentiels qui permettent de caractériser les espèces. Il faut donc tout en profitant des indications des caractères morphologiques, chercher ailleurs des caractères distinctifs entre espèces. Nous noterons la forme microscopique des cultures en milieux solides, la production des voiles formées en milieu liquide au contact de l'air, les variations produites sur les cellules par l'action des différents milieux ou des différentes conditions physiques, et surtout nous rechercherons les caractères biochimiques de l'espèce. C'est à HANSEN que nous devons la solution de la question délicate de la spécification.

En effet HANSEN a utilisé comme caractères de détermination, la forme et la dimension des cellules à diverses températures et dans différents milieux, la forme des ascospores et leur mode de

---

(1) Nous empruntons à Guilliermond la grande partie des renseignements contenus dans ce chapitre (Voir pour plus de détails son livre magistral, *Les levures*.

germination, les limites de températures du bourgeonnement, de la formation des voiles et des cultures, les propriétés biochimiques des levures, surtout leur action vis-à-vis des différents sucres. LINDNER a ajouté à cet ensemble de caractères l'usage très commode de l'aspect microscopique de ce qu'il désigne sous le nom de colonies géantes (Riesenkolonie).

#### A) Caractères de la végétation de dépôt.

Le premier examen devra porter sur l'aspect microscopique du dépôt, on procédera ensuite à l'examen microscopique des cellules.

*Aspect du dépôt de levures.* — La forme microscopique du dépôt dans les fermentations peut former des indications utiles. C'est ainsi qu'il peut offrir des aspects caractéristiques : la levure peut rester en suspension et troubler ainsi les liquides, elle peut aussi adhérer au fond du ballon, se prendre en grumeaux, se coller le long des parois, etc.

*Formes et dimensions des cellules.* — Le second examen devra consister à observer au microscope la forme et la dimension des cellules obtenues dans la végétation de dépôt dans un milieu sucré liquide.

HANSEN préconise pour cela une culture jeune, sur moût de bière, de 24 heures à 25°, ou de 2 à 3 jours à la température du laboratoire. Les dimensions des cellules sont excessivement variables, ceci n'a d'ailleurs qu'une très faible importance, mais leur forme peut parfois fournir des indications précieuses. Quelques levures présentent en effet des formes caractéristiques qui permettent de les reconnaître assez rapidement. Ainsi le genre *Hansenia* et le *S. apiculatus* offre des formes apiculées (type apiculé, qu'il n'est pas possible de confondre avec les cellules des autres levures). Le genre *Saccharomyces* se distingue aisément par ses cellules allongées, tubuleuses, en forme de bouteille et à mode de reproduction intermédiaire entre le bourgeonnement et le cloisonnement transversal. De même il est facile de différencier un *Schizosaccharomyces* d'une levure bourgeonnante. Certains genres de levures le *Torulaspora* et *Debaryomyces* et beaucoup de *Torula* présentent une forme particulièrement sphérique assez spéciale avec un gros globule de graisse (type torula). D'autres levures sont allongées, cylindriques, en forme de colonne

à couleur hyaline et bourgeonnent toujours aux extrémités (type mycoderma).

Mais la grande majorité des levures ne présentent aucun de ces caractères spéciaux, permettant de les reconnaître par un simple examen microscopique.

Il faut donc avoir recours à d'autres moyens (GUILLIERMOND).

#### Méthode pour obtenir la sporulation des levures.

Pour qu'une levure sporule il est nécessaire que ses cellules soient jeunes et bien nourries. Il faut qu'elles aient accumulé dans le protoplasma des réserves suffisantes pour assurer la formation des ascospores. Que doit-on faire d'abord? On cultive la levure que l'on désire voir sporuler dans un milieu nutritif que l'on renouvelle deux ou trois fois. Un milieu de choix est le moût de bière. Cette opération a pour but de rajeunir la levure. Cette technique effectuée on la soumet à l'inanition. Dans ces conditions, la levure se trouvant dans l'impossibilité de se multiplier par bourgeonnement, formera dans ses cellules des ascospores. ENGEL a indiqué le premier un procédé qui a été ensuite perfectionné par HANSEN; on dépose sur un bloc de plâtre <sup>1</sup>, à surface lisse un bloc d'argile cuite ou un bloc de porcelaine poreuse la levure rajeunie.

Trois conditions sont nécessaires et même indispensables pour obtenir la sporulation : 1° le libre accès de l'air; 2° une température favorable; 3° un certain degré d'humidité.

Pour réaliser ces conditions, on place le bloc de plâtre dans un cristalliseur dans lequel on verse une certaine quantité d'eau distillée. Celle-ci doit former au fond du récipient une couche suffisamment épaisse pour atteindre environ la moitié de la hauteur du bloc de plâtre. Le bloc doit seulement s'imbiber d'eau. Le cristalliseur est fermé à l'aide d'un couvercle non rodé, afin que l'air y pénètre librement. L'appareil ainsi préparé est stérilisé à l'autoclave à + 115° pendant une 1/2 heure. Les levures rajeunies sont ensuite recueillies et déposées sur le bloc de plâtre. L'opération est un peu délicate. Si le moût dans lequel elles se trouvent est liquide on le filtre; on racle ensuite à

---

1. Il est facile de fabriquer soi-même ce bloc de plâtre. Il suffit de mélanger deux volumes de plâtre en poudre aux trois quarts de volume d'eau. On pétrit ce mélange et on lui donne une forme cylindrique ou aplatie à l'aide d'un moule (tube creux, verre de Boite de Petri, etc.)...

l'aide d'un scalpel ou d'un fil de platine flambé, la levure qui reste déposée sur le filtre et on la place sur la surface du bloc de plâtre. Si le moût est gélatiné, il suffit de racler avec un scalpel une petite portion de la culture et de la disposer sur le bloc. On ferme ensuite le cristallisoir à l'aide de son couvercle et on place l'appareil à l'étuve entre 25 ou 30°, suivant le cas. Chaque levure a une température optima de sporulation qui généralement se trouve située aux environs de 25 à 30°. Au bout de 30 à 35 heures la plupart des cellules ont généralement sporulé.

On peut également employer le dispositif imaginé par Hansen<sup>1</sup> et qui a reçu le nom de flacon de Hansen. C'est un flacon cylindrique dont le col est fermé par un capuchon rodé à l'émeri et surmonté d'un tube que l'on bouche par un tampon de coton qui permet l'aération. Un tube latéral inséré sur un côté du flacon est fermé par un tampon d'amiante. On introduit dans l'intérieur du flacon, en ouvrant le capuchon, une couche de plâtre en bouillie sur laquelle on scelle un bloc cylindrique de plâtre. On stérilise ensuite le flacon dans un autoclave à + 115°.

L'opération terminée on ouvre le capuchon et à l'aide d'un fil de platine on introduit rapidement un fragment de la levure à étudier. On referme le capuchon et on met ensuite de l'eau stérilisée dans le fond du flacon au moyen du tube latéral.

On peut également employer le procédé de Mlle GORON KOWA qui est beaucoup moins compliqué que le procédé d'Engel-Hansen et donne d'assez bons résultats dans la majorité des cas. La faible quantité de glucose introduite dans ce milieu est insuffisante à assurer pour longtemps la nutrition de la levure, aussi sporule-t-elle abondamment au bout de deux ou trois jours. Guilliermond a lui-même utilisé ce milieu pour plusieurs levures et les résultats qu'il a obtenus ont été fort encourageants.

On peut également placer la levure rajeunie dans une mince couche d'eau distillée, sur papier buvard imbibé d'eau (WASSERZUG) ou sur gélatine pure.

Parfois les levures sporulent aussi sur les milieux solides (gélatine et gélose nutritives, pain humide). Les tranches de carottes surtout constituent un excellent milieu pour obtenir la sporulation (REISS). La plupart des levures y forment leurs ascospores au bout de huit-dix jours. Ce procédé est très recom-

---

<sup>1</sup> On peut ainsi éviter la facile infection du cristallisoir par les bactéries.



mandable pour les études cytologiques, car il permet de suivre tout le développement d'une levure depuis la germination des ascospores jusqu'à la formation de nouvelles ascospores.

Il facilite en outre les fixations que l'on peut faire en découpant un petit fragment de la surface de la carotte ou la levure s'est développée et en le plasant dans le bain fixateur. GUILLIERMOND l'a employé avec succès dans ses recherches cytologiques sur la copulation et la sporulation des levures. Il faut reconnaître cependant que cette méthode exige beaucoup de temps pour obtenir la sporulation et qu'elle ne réussit pas toujours avec toutes les levures.

La décoction de foie gélatinée donne quelquefois de bons résultats (Klöcker).

Enfin d'autres levures forment facilement des ascospores dans la plupart des milieux liquides lorsque l'aliment vient à s'épuiser (*Willia*, *Pichia*, etc.).

Certaines levures parasites (*S. guttulatus* par exemple) ne sporulent que sur les excréments des animaux ou elles vivent en parasite (GUILLIERMOND).

#### Détermination du nombre des cellules dans une culture et étude du pouvoir de multiplication d'une levure.

PANUM et HANSEN ont appliqué la méthode imaginée par MALASSEZ pour calculer le nombre des globules de sang contenu dans un volume déterminé. On se sert donc de l'hématimètre de Hayem. Cet appareil se compose d'un porte objet sur le milieu duquel se trouve collé un couvre-objet d'épaisseur connue (0,2 mm.) et au milieu duquel on a pratiqué une ouverture circulaire; l'ensemble forme une petite cuvette de 0,2 mm. de haut; on le recouvre ensuite par un autre couvre-objet. A l'aide d'un dispositif optique placé sous la lame, on projette à la surface du porte-objet l'image d'un carré de 0,2 mm. de côté; ce carré est divisé en 16 parties pour faciliter la numération. On a ainsi en fin de compte un cube de 0,2 mm. de haut (hauteur de la cuvette) et ayant comme base un carré de 0,2 mm. de côté (image projetée). Ce cube a donc  $0,2 \times 0,2 \times 0,2 = 0,008$  mm. cube. On agite bien le liquide de culture, pour répartir également les cellules. On en prélève une goutte, que l'on place dans la lame cuvette en ayant soin qu'elle n'atteigne pas les bords de celle-ci. On recouvre d'un couvre-objet; celui-ci doit toucher le liquide.

On a ainsi une lame de liquide de culture de 0,2 mm. de haut. En comptant le nombre de cellules contenues dans les limites de l'image du carré, on a le nombre de cellules contenu dans 8 millièmes de millimètre cube. On prend la moyenne de plusieurs observations et on en déduit le nombre de cellules par millimètre et centimètre cube. En répétant la même opération à des intervalles régulièrement espacés, on arrive à se faire une idée du pouvoir de multiplication de la levure examinée.

#### Méthode pour déceler les propriétés des levures vis-à-vis des sucres.

La manière dont se comportent les levures vis-à-vis des hydrates de carbone constitue un caractère spécifique important aussi est-il nécessaire de savoir déceler les propriétés des levures vis-à-vis des sucres. Le procédé le plus commode est celui préconisé par Lindner (1).

Il consiste à remplir, avec une goutte d'eau de levure contenant une dilution des germes, une chambre humide ordinaire. On ajoute alors à la goutte, à l'aide d'un fil de platine, une petite quantité de sucre que l'on veut examiner. On a eu soin de soumettre ce sucre à une fine pulvérisation, de manière que l'on puisse en prendre, à l'aide d'un fil de platine, des quantités à peu près égales. La chambre humide contenant la goutte ainsi préparée, est ensuite recouverte d'un couvre-objet et déposée dans une étuve à 25°. Le lendemain on examine la préparation. Si une fermentation a eu lieu, le couvre-objet se trouve un peu détaché de la vaseline qui le collait à la chambre humide et une grosse bulle d'air apparaît sur le couvre-objet. Pour s'assurer que la bulle d'air est bien formée par de l'acide carbonique il suffit de laisser tomber quelques gouttes de potasse caustique sur le couvre-objet. Si la bulle renferme de l'acide carbonique, elle se rétrécit aussitôt et disparaît. Quand il n'y a pas de fermentation, la levure forme une sorte de voile sur le couvre-objet qui reste adhérent à la chambre humide (GUILLIERMOND).

#### Méthode d'examen cytologique des levures.

Pour une étude cytologique des levures, le premier examen doit se faire sur l'organisme vivant que l'on peut fort bien colorer, sans l'altérer le moins du monde, par le rouge neutre. Il suffit de placer quelques cellules vivantes de la levure que l'on désire

étudier dans une goutte d'une solution aqueuse de rouge neutre à 1 pour 10.000. Le protoplasme et le noyau reste incolores, seules les parties plus résistantes et moins vivantes de la cellule fixent les colorants : c'est-à-dire la vacuole et les corpuscules métachromatiques contenus dans cette dernière. La coloration se diffuse dans la vacuole, qu'il colore faiblement, et se fixe électivement sur les corpuscules métachromatiques.

Cette opération faite — examen des cellules à l'état vivant avec ou sans coloration vitale — on peut entreprendre une étude cytologique plus approfondie sur les cellules fixées, c'est-à-dire tuées par des substances qui les fixent dans la forme qu'elles avaient à l'état vivant.

Pour fixer ces préparations on découpe une petite portion de gélatine, ou de tranche de carotte, ou de pomme de terre, sur laquelle s'est développée la levure et on place ce fragment dans un cristalliseur renfermant le bain fixateur. Les frottis, très en usage pour les fixations de microorganismes, ont l'inconvénient de contracter notablement les cellules de levures.

La fixation une fois effectuée, on étale la levure en faisant des frottis sur des lames de verre enduites d'une très légère couche d'albumine, pour la maintenir adhérente. Il est alors possible de plonger les frottis dans un bain colorant. Ces procédés de fixation et de coloration varient suivant que l'on veut étudier le **noyau ou les enclaves de la cellule.**

Pour l'étude du noyau, GUILLERMOUD, qui s'est beaucoup occupé de la question et qui demeure un maître dans cette partie, recommande les fixations au liquide de Bouin. La durée de la fixation doit être environ de 12 heures. On colore ensuite par la méthode de Heidenhain à l'hématoxyline ferrique (mordantage pendant 12 heures dans une solution à 2 1/2 % d'alun de fer ammoniacal, lavage rapide à l'eau, coloration à l'hématoxyline solution aqueuse à 1 % pendant 24 heures, lavage à l'eau, puis différenciation dans la solution d'alun qui a servi au mordantage). On obtient ainsi une belle différenciation du noyau qui se détache en noir foncé sur le protoplasme gris. Les grains basophiles se colorent assez énergiquement, mais les corpuscules métachromatiques n'apparaissent généralement pas.

L'hématoxyline de Delafield et l'hémalum donnent aussi de bons résultats, après fixation au liquide de Bouin. Ces colorants permettent de différencier à la fois le noyau qui apparaît avec une teinte un peu diffuse, et les corpuscules métachromatiques, qui

prennent une coloration intérieure rouge vineux. Les préparations ainsi obtenues doivent être conservées dans la gélatine glycérinée de Kayser, de préférence au baume de Canada qui souvent détermine une forte contraction des cellules.

L'alcool, le formol et le liquide de Lenhossek sont les fixateurs les plus précieux pour l'étude des corpuscules métachromatiques mais bien recommandables pour l'observation du noyau.

Le bleu polychrome d'Unna, le bleu de Cruryl, le bleu de méthylène (solution aqueuse à 1 %) donnent des colorations électives des corpuscules métachromatiques, mais sont le plus généralement mauvais pour différencier le noyau. Les préparations obtenues par ces teintures se dissolvent presque aussitôt dans la gélatine glycinée, et ne peuvent être conservées que dans le baume de Canada.

Pour la différenciation du glycogène on emploie généralement l'iode de potassium *ioduré* (liqueur de Lugol), (voir page 103) ou encore le réactif de Gueguen (page 101). Pour les graisses, il suffit de fixer les préparations par le liquide de Flemming qui brunit fortement les globules d'huile renfermées dans la cellule. L'acide osmique ou le sudan III sont également de bons réactifs des graisses.

#### Conservation des levures.

Il est quelquefois nécessaire de conserver des échantillons de levures pour constituer une collection de laboratoire. On peut avoir à échanger entre laboratoire des cultures de différentes espèces. Il faut donc savoir conserver les cultures pendant la durée du voyage surtout si ce voyage doit se prolonger un ou plusieurs mois.

D'après les recherches de Hansen (1) le meilleur procédé de conservation des levures consiste à les cultiver dans un liquide à 10 p. 100 de saccharose sans acide. La saccharose ne fermente pas et n'est consommée que très lentement.

Sur 42 espèces de levures examinées dans ce milieu, deux seulement se sont rencontrées fragiles, le *S. Ludwigii* qui est mort au bout de 1 à 2 ans, parfois 6 ans, et le *S. monacensis*

---

(1) Hansen (E. Ch.), Recherches sur la physiologie des ferments alcooliques, C. R. du laboratoire de Carlsberg, t. XIII, 1898.

qui n'a pas survécu plus de 2 ou 3 ans. Les autres ont pu se conserver de 13 à 17 ans. D'une manière générale, le procédé donne les meilleurs résultats. On emploie à cet effet le flacon Hansen. Le bouchon d'amiante qui bouche le tube latéral doit être recouvert de cire à cacheter. Jørgensen a modifié cet appareil en introduisant dans le capuchon un petit tube recourbé qui permet d'empêcher l'évaporation du contenu du flacon pendant plusieurs années.

WILL a imaginé de dessécher la levure en la mélangeant de poudre de silice, de plâtre et de charbon, le tout étant desséché peu à peu jusqu'à 40° et placé ensuite dans des boîtes métalliques hermétiquement closes, à l'abri de la lumière. Par ce procédé il a pu conserver des levures pendant 9 ans.

Hansen a montré que cette résistance tient à ce que les levures forment des ascospores pendant leur dessèchement.

Nous avons vu en effet que la dessiccation, tout en étant défavorable à la sporulation, permet cependant à certaines cellules de former leurs ascospores. (GUILLIERMOND).

#### Procédé de laboratoire pour déceler les levures et constater leurs pouvoir pathogène (2).

Le diagnostic de la blastomycose ne peut se faire que par des recherches de laboratoire. Voici les procédés les plus communément employés pour déceler le parasite incriminé.

##### 1° Examen de fragments ou raclage de lésions cutanées. —

Dans ces cas on emploie la potasse caustique à 40 p. %; on place les fragments sur un porte-objet, dans une goutte de la solution potassique, on recouvre d'une lamelle et on chauffe avec précaution jusqu'au voisinage de l'ébullition; puis on examine. Les levures se reconnaissent assez facilement grâce à leur volume, leur réfringence, leur double contour.

On peut également employer le bleu lactique ou le colorant triple de GUEGUEN à la place de la solution potassique.

---

1 Will H., *Einige Beobachtungen über die Lebensdauer getrockneter Hefe*, Zeitschr. f. d., Ges. Brau., t. XIX et XXVII, 1896-1904. — *Beobacht an Hefen. Konservation*, C. Bl. f. Bakt., t. XXIV, 1909.

2 Harter nous a fourni les renseignements les plus précis pour déceler les levures et constater leur pouvoir pathogène. Nous sommes heureux de le remercier ici.

2° *Examen d'une biopsie.* — Cette biopsie peut consister en un fragment d'une lésion cutanée ou le plus souvent d'un nodule sous-cutané. Dans ce cas il faut la fixer et faire des coupes à la paraffine et colorer ces dernières. Le fixateur ne semble pas avoir une grande importance. On peut utiliser l'alcool à 70°, le formol à 10 p. %, le formol pierique.

La coloration à l'hémalum est très bonne, mais pour avoir une différenciation bien nette il faut compléter la coloration par l'éosine. Le Dominici (éosine orange, bleu de toluidine), le Prenant (hématéine, eau, éosine orange, alcool, vert lumière, alcool, xylol). Le Gram donnent aussi de belles préparations.

3° *Examen du pus.* — C'est le pus qu'on peut avoir le plus fréquemment à examiner : pus d'ulcération de la peau, pus provenant d'une ponction, d'un abcès hypodermique, d'un gros abcès pottique, d'une arthrite. On peut alors examiner dans une solution faible de potasse. Le mieux est de fixer et de le colorer à hémalum seul ou à l'hémalum éosine.

4° *Cultures* — Les cultures sont nécessaires non seulement pour affirmer le diagnostic mais pour déterminer le parasite. Il faut donc, quand on a un fragment d'une biopsie ou du pus, faire des préparations microscopiques avec une partie du matériel et mettre l'autre en culture.

Les blastomycètes peuvent pousser sur tous les milieux, mais ils préfèrent de beaucoup les milieux sucrés; on en dispose à l'étuve à  $+37^{\circ}$  et on en laisse à la température du laboratoire.

Généralement les colonies de levures apparaissent le troisième ou le quatrième jour, elles sont crémeuses, bien différentes des autres colonies microbiennes qui peuvent aussi pousser. Il faut douter du pouvoir pathogène d'un champignon qui ne pousse pas à  $+37^{\circ}$ .

Un prélèvement de la culture, examiné directement sur lames et ensuite après action du bleu de toluidine ou du rouge neutre, nous renseignera rapidement sur la nature et les principaux caractères du parasite.

5° *Examen de divers autres produits.* — Les levures peuvent être décelées dans d'autres produits de l'organisme : dans les crachats (Gram, hématéine-éosine), les selles (état frais, hématéine-éosine), les liquides de ponctions pleurales péritonéales et surtout lombaires (centrifugation : examen à l'état frais, étalement sur lame, fixation et coloration à l'hématéine), dans les



urines, dans le sang (sur lames par le procédé ordinaire d'étallement et après coloration à l'hémalum-éosine), dans les écoulements du col utérin.

*Hémoculture* : Dans quelques cas on a isolé par ce procédé les blastomycètes. On peut par exemple mélanger 20 centimètres cubes de sérum (ou du sang) à 5 centimètre cubes de gélose glucosée. Mais il n'a pas toujours donné les résultats attendus.

*Agglutination* : Le sérum du malade agglutine généralement dans la blastomycose les cultures du microorganisme isolé. C'est là non seulement un procédé de diagnostic mais aussi un moyen de vérifier le pouvoir pathogène de ce parasite.

*Inoculations* : Les inoculations sont nécessaires après la culture à  $-37^{\circ}$  pour prouver le pouvoir pathogène d'une levure. Après obtention d'une tumeur sous-cutanée par exemple chez un animal, il ne faut pas se contenter d'obtenir une culture pure du parasite en ensemençant des tubes avec le produit de l'animal, mais examiner histologiquement cette lésion, voir si le parasite qui y est contenu a vécu dans les tissus. Nous avons vu dit Harter qui s'est beaucoup occupé de ces questions de blastomycoses, un cas où des parasites à l'état de vie latente pendant plus d'un mois ont pu, réensemencés sur des milieux sucrés, redonner une culture pure. L'animal de choix pour les blastomycètes paraît être le rat.

Dans la blastomycose il faut toujours rechercher à exclure la tuberculose; ce sont surtout des inoculations aux cobayes qui nous renseigneront, la séro-réaction, la cuti et l'ophtalmo-réaction pourront aussi nous donner des indications.

*Remarques* : Comme nous l'avons vu la technique des blastomycètes comporte les méthodes de recherche de ces champignons dans l'organisme au sein des lésions, leur culture sur les milieux artificiels et les modes d'infection expérimentale chez les animaux.

Les cellules des blastomycètes possédant une structure typique sont aisées à reconnaître au sein des tissus; l'addition d'une goutte d'une solution de soude caustique à 1 % au produit pathologique facilite beaucoup l'étude de ces éléments. Il ne faut jamais négliger cet examen direct il doit dans tous les cas confirmer l'observation faite, grâce aux diverses méthodes de coloration: car là où l'examen direct sera négatif, il sera téméraire au moins d'affirmer la nature blastomycétienne des forma-

tions qui seraient mises en évidence uniquement par les méthodes de coloration (GEDOELST).

*Coloration* : Les méthodes de coloration sont multiples. La méthode de Gram donne souvent d'excellents résultats.

BussÈ recommande le procédé suivant :

Colorer dans l'hématoxyline.

Laver à l'eau.

Colorer dans une solution très diluée de fuchsine phéniquée, 30 minutes à 24 heures.

Décolorer dans l'alcool (15 secondes à 1 minute, éventuellement avec addition de 1 à 2 gouttes d'acide picrique).

Eclairer dans le xylol.

Monter dans le baume de Canada.

Cette méthode ne convient pas pour l'étude de la structure intime des levures.

*La méthode de Curtis* est de beaucoup préférable.

Colorer au carmin lithique à la manière ordinaire.

Colorer ensuite pendant 10 minutes dans la solution suivante :

Solution alcoolique concentrée de violet de méthyle. . . 1,0.

Solution aqueuse de potasse caustique 1 : 1000. . . . . 9,0.

Décolorer pendant 1 minute dans une solution à 1 % d'acide pyrogallique.

Décolorer pendant 15 secondes dans l'alcool. Mêler à l'eau.

Monter dans un liquide sucré ; tel que le liquide de Brun.

SAN FÉLICE indique la méthode suivante qui a des avantages :

Colorer dans la solution de violet de gentiane de Ehrlich de la manière ordinaire.

Colorer ensuite dans une solution aqueuse à 1 % de safranine.

Les cultures des blastomycètes se font sur la plupart des milieux artificiels usités en bactériologie ; parmi les liquides on peut signaler le liquide de Naegeli additionné de 2 % de glycose (Linossier, Roux), les décoctions végétales (carotte, betterave, etc.) l'eau de touraillon, le moût de bière et le bouillon artificiel, glyciné ou non dont GEDOELST a proposé la formule (voir page 19).

Parmi les milieux solides il convient de citer indépendamment des milieux liquides rendus solides par l'addition de gélatine ou de gélose. la gélatine et la gélose ordinaire avec addition ou sans addition de glycérine ou de glucose, maltose en même temps que peptone, la pomme de terre, la carotte, la betterave, le sérum sanguin solidifié, etc...

---

**Recherche de l'*Endomyces albicans* dans la cavité buccale.**

On prélève un petit fragment dans les concrétions blanchâtres de la stomatite crémeuse. On le dissocie dans une goutte d'eau sur le porte-objet et on fait agir pendant quelques instants la solution forte de Gram. Le champignon se colore en brun par l'iode.

On peut également dissocier la particule prélevée dans une goutte de glycérine ou mieux d'acide acétique qui pâlit les cellules épithéliales et fait apparaître beaucoup mieux le parasite. On peut également colorer les frottis par une solution aqueuse de couleur basique d'aniline.

Nous employons depuis fort longtemps le bleu lactique, page 100 ou le colorant triple de Gueguen, page 101.

Toutefois le diagnostic ne peut être confirmé que par la culture. A cet effet, on sépare une parcelle de la fausse membrane du muguet avec une spatule de gélatine flambée; on dilue dans quelques centimètres d'eau stérilisée ou de bouillon et on ensemente dans des tubes de gélatine liquéfiée; on agite et on coule dans des boîtes de Petri (méthode des plaques) page 53. Après 48 heures, on constate avant l'apparition des microbes ordinaires de la bouche, la présence de petites colonies blanches, arrondies qui grandissent peu à peu, deviennent crémeuses. Ce sont des colonies de muguet exclusivement. On s'en assure d'ailleurs par l'examen microscopique. La gélatine n'est jamais liquéfiée.

---

## CHAPITRE XXI

---

### TECHNIQUE POUR LES PÉRISPORIÉES. ASPERGILLACÉES

La technique des Aspergillacées comporte les mêmes méthodes de culture de ces champignons sur milieux artificiels et les méthodes de recherche dans les lésions et les produits pathologiques.

*Milieux de culture.* — Le milieu de culture qui convient le mieux à la culture de ces cryptogames est le liquide du Raulin. Le moût de bière, le moût de raisin blanc, la solution de maltose-peptone de Sabouraud, le lait, l'urine humaine stérilisée à froid et acide, et le jus de groseille filtré et stérilisé peuvent être employés.

Comme milieux solides, on peut employer avec succès la pomme de terre, la carotte, le pain humide, ou le Raulin gélatiné ou gelosé.

*Cultures.* — Pour obtenir des cultures pures, il convient d'examiner les milieux au moyen d'une spore unique, ce que l'on peut réaliser comme il a été dit pour les *Mucorinées*.

Pour suivre le développement des Aspergillées, il faut recourir aux cultures en cellules. Voir page 41.

La diagnose (des Aspergillacées) des espèces susceptibles d'être cultivées sera autant que possible établie sur les caractères de la plante à l'optimum de végétation, elle sera accompagnée de données thermiques et de l'indication de l'amplitude des variations suivant les conditions de milieu. Lorsque pour des raisons diverses, l'espèce ne pourra pas être cultivée, on devra toujours

préciser les conditions de milieu dans lesquelles les éléments numériques ou les données caractéristiques de la diagnose ont été établies (1).

*Préparations microscopiques.* — Quand on part d'une culture en cellule, il suffit de remplacer la goutte de solution nutritive par une gouttelette d'acide acétique, qui fixe les éléments, on monte ensuite dans la glycérine après coloration.

Quand les éléments de la préparation sont empruntés à une culture en masse, il convient de recourir à la méthode de Crookshank : on dépose une goutte de glycérine sur un porte-objets et une goutte d'alcool sur un couvre-objets. On introduit les fragments du champignon dans l'alcool, on renverse le couvre-objets sur la goutte de glycérine et on porte le tout sur une flamme jusqu'à l'apparition de bulles d'air; la coloration peut se faire avec la fuchsine phéniquée de Ziehl très étendue d'eau, une solution hydro-alcoolique très diluée de bleu de méthylène ou de violet de gentiane, une solution aqueuse peu concentrée de saponine ou d'éosine à 1 % et la solution de thionine phéniquée suivant la formule de Nicolle.

Coloration par le bleu lactique :

*Pouvoir pathogène :* Pour déterminer le pouvoir pathogène d'un *aspergillus* il faut avoir recours à l'expérimentation en tenant compte bien entendu que tous les animaux de laboratoire ne sont pas également réceptifs. Tous les *aspergillus* ne sont pas pathogènes. Leur nocivité est en relation avec le diamètre des spores et la température de germination.

L'aspergillose peut être provoquée :

1° Par *inhalation* de spores d'*aspergillus* de manière à provoquer leur pénétration dans l'appareil respiratoire. Les résultats sont inconstants.

2° Par *ingestion*, généralement les oiseaux s'infectent de cette façon, pour les mammifères le résultat est aléatoire.

3° Par *inoculation*, c'est le procédé de choix, inoculation sous-

---

(1) MANGIN. Formation normale et formation désordonnée des conidies chez les *Aspergillacées*. C. R. Ac. Sc. t. CXLVII, pp. 261-263.

Sur la nécessité de préciser les diagnoses des moisissures. Bull. Soc. Bot. Fr. t. LV, pp. 17-29, 1918.

cutanée pour les *aspergillus* qui végètent sur la peau ou dans les tissus.

L'injection de spores dans le derme, dans le parenchyme, produit des tumeurs ou des abcès localisés. On a pu provoquer des kératites de l'œil. Dans le péritoine il y a congestion de la séreuse et mort au bout de quelques jours.

Par voie intra-veineuse il se produit une infection généralisée avec production de lésions dans les divers organes et mort très brève.

*Lapins, Cobayes, Singes, Pigeons* sont très réceptifs.

*Nota* : Il est indispensable de compter le nombre de conidies contenues dans l'émulsion à injecter (voir page 106).

De la comparaison des chiffres obtenus entre des Mucédinées assez voisines les unes des autres au point de vue de la dimension des conidies et de l'optimum cultural, paraît ressortir avec évidence un fait important signalé par SARTORY et JOURDE. C'est la relation entre le pouvoir pathogène des mucédinées et les limites d'acidité et d'alcalinité entre lesquelles elles croissent. Les champignons non pathogènes *Sterigmatocystis nigra* et *carbonaria*, *Paecilomyces Varioti*, sont inhibés par des doses d'alcalis qui permettent le développement d'espèces pathogènes (*Sterigmatocystis lutea* et *fuscus*, et surtout d'espèces très virulentes (*Aspergillus fumigatus* et *Sterigmatocystis nidulans*).

*Recherche dans les lésions.* — On peut comme le dit GEDOELST démontrer rapidement l'existence du parasite dans une lésion en écrasant un fragment d'organe et en traitant la pulpe ainsi obtenue par une solution de potasse à 20 p. 100 pendant quelques minutes.

Ce procédé ne peut cependant fournir de belles préparations.

Pour réaliser des préparations pouvant donner des renseignements précieux, il est nécessaire de fixer, de durcir les organes et de les débiter en coupes microtomiques. On soumet ensuite les coupes à la coloration. Les méthodes de Weigert et de Gram donnent des résultats variables, la décoloration affectant souvent le champignon lui-même. On peut éviter cette dernière en surcolorant par le violet.

GAUCHER et SERGENT laissent les coupes 24 heures dans le violet de gentiane aniliné et 4 à 5 minutes dans la solution de Gram, ils décolorent ensuite par l'alcool absolu et l'huile d'aniline.



RENON recommande la thionine phéniquée de Nicolle; on laisse les coupes une minute à peine dans le bain colorant, on lave rapidement à l'eau distillée, puis on décolore avec quelques gouttes d'alcool absolu ou d'acétone pur. On passe ensuite dans le xylol et on monte au baume.

#### RECHERCHE DE L'ASPERGILLUS FUMIGATUS DANS LES CRACHATS

On sait que chez l'homme l'*Aspergillus fumigatus* donne naissance à une pseudo-tuberculose sensiblement identique à la phthisie pulmonaire et le diagnostic ne peut être établi avec certitude que par les crachats. Au lieu et place de Bacille de Koch on trouve dans les expectorations un feutrage plus ou moins serré de filaments mycéliens. Si on a exécuté une préparation en vue de la recherche du bacille tuberculeux, les filaments mycéliens sont colorés par le bleu de méthylène. Pour mettre ces débris mycéliens en évidence d'une façon plus nette, il est de beaucoup préférable de faire un Gram, voir page 103 ou de les colorer tout simplement par la thionine phéniquée ou par la solution aqueuse de safranine.

Si l'on constate l'absence de bacilles de Koch et la présence de filaments mycéliens, il est nécessaire et indispensable de prouver que le mycélium trouvé est bien celui de l'*A. fumigatus* et non celui de l'*Oospora bovis*, de l'*Oospora pulmonalis* ou *bronchialis*.

Il faut pour cela recourir aux cultures. A cet effet on prélève aussi soigneusement que possible de petites parcelles au centre des crachats verdâtres du malade et on les ensemeince dans des matras de 250 grammes de capacité renfermant environ 125 grammes de liquide de Raulin stérilisé. On dispose ces matras à l'étuve à  $+ 37^{\circ}$  et on constate qu'au bout de trois à dix jours il se forme à la surface un tapis velouté blanchâtre, qui, vingt heures après, se couvre de spores verdâtres, prenant une couleur noir de fumée au bout de quelques jours.

On vérifie les caractères botaniques du champignon isolé. Si il n'est pas en culture pure on l'isole à l'état de pureté par les méthodes indiquées page 53. De plus on s'assure que tous les

---

(1) Il faut tenir compte qu'un certain nombre de champignons du genre *Oospora* peuvent être acido-résistants. Sartory a décrit en 1916 un *Oospora pulmonalis* var. acido-résistant.

caractères botaniques, cultureux, biologiques et le pouvoir pathogènes correspondent bien à l'*A. fumigatus* FRES.

Tous ces caractères sont indiqués page 140.

Cette technique s'applique à tous les aspergillus pathogènes pouvant être contenus dans les crachats (*A. bronchialis*, *Sterigmaticystis nidulans*, etc...)

#### Technique pour les productions parasitaires des Périssporiées.

Pour l'étude des productions parasitaires des Périssporiées on emploie les méthodes générales :

Les squames épidermiques dégraissées (ammoniaque, chloroforme, éther, liquide d'Hoffmann), sont traitées, à froid ou à chaud, par une solution de potasse plus ou moins concentrée, puis colorées.

On peut également, après dégraissage, les mordancer par l'acide formique bouillant (2 à 3 minutes) ou les traiter, pendant quelques minutes, par de l'alcool absolu saturé d'acide picrique et additionné de quelques gouttes d'acide acétique.

Après lavage, on colore par l'éosine, le bleu polychrome de Unna, la thionine phéniquée, le bleu boraté de Sahli. (Voir coloration par l'alcool absolu). Montage au baume.

Les exsudats des muqueuses ou les pus sont étalés sur lame de verre et traités quelques secondes à chaud, ou quelques minutes à froid, par une solution de potasse. Après lavage on colore comme nous l'avons indiqué il y a un instant.

Dans les tissus, l'examen extemporané se fait en écrasant sur une lame de verre une parcelle de tissu suspect et en traitant par la potasse. Les rapports des parasites avec les tissus s'étudient par la méthode des coupes histologiques et l'emploi de la technique générale.

Pour examiner le mycélium des cultures, on prélève un fragment que l'on immerge dans une goutte d'alcool déposée sur une lame, on recouvre avec une lamelle portant une goutte de glycérine et on chauffe doucement jusqu'à apparition des bulles (Croosshank). Coloration par le bleu de Sahli, la thionine phéniquée, la solution de Ziehl étendue, ou des solutions aqueuses étendues (1 % de safranine, éosine, etc...)

#### Technique pour rechercher les parasites du Toklau.

Traiter la squame par l'éther ou un mélange d'alcool et d'éther

pour la dégraisser, puis par une solution de potasse caustique à 4 % pendant deux minutes. Laver à l'eau et monter dans la glycérine ou bien dans une solution d'éosine. Quand on veut obtenir une préparation durable, il convient de colorer dans le bain suivant :

Solution saturée d'éosine dans l'alcool, 1 partie.

Alcool absolu . . . . . 2 parties.

Après deux minutes, enlever toute trace de ce bain colorant, éclaircir au moyen d'une goutte d'essence de girofle, remplacer celle-ci par du xylol et monter dans le baume de Canada au xylol.

Si on désire isoler le champignon de la squame, il faut faire macérer celle-ci pendant 2 jours dans une solution de soude à 2 %. Secouer énergiquement pour dissocier les squames, laisser reposer, décantier la solution de soude, laver à l'eau distillée à plusieurs reprises, décantier l'eau et porter sur une lame le liquide trouble qui s'est amassé au fond du récipient. On laisse sécher et on fixe avec un mélange à parties égales d'alcool et d'éther. On colore par la solution de Gram pendant 10 à 20 secondes. Ou lave, on laisse sécher, on éclaircit avec l'essence de girofle qui enlève l'excédent de colorant, on remplace l'essence par le xylol et on laisse sécher. On doit éviter de monter dans le baume de Canada au xylol, le champignon se colorant dans ce milieu. (Gedœlst).

#### Technique pour la Recherche des champignons des Caratès.

Cette technique comporte le traitement des squames, la coloration des champignons et l'ensemencement de ces parasites en milieux artificiels convenables.

*Traitement des squames.* — Les squames peuvent être traitées par une solution de potasse caustique à 40 p. 100 que l'on chauffe doucement à la flamme pendant quelques secondes, sans aller jusqu'à l'ébullition. Ce procédé permet de déceler la présence du parasite.

*Préparations microscopiques.* — Tout d'abord il est indispensable de dégraisser la squame par un peu d'ammoniaque qu'on laisse agir pendant quelques minutes. On la traite ensuite par l'alcool saturé d'acide picrique et additionné de 4 à 5 gouttes d'acide acétique. Après 5 minutes, on lave à l'eau distillée. On écrase ensuite la squame avec précaution entre deux lamelles et on

examine au microscope celles de ces préparations qui montrent bien le mycélium et ses organes de fructification.

La méthode de coloration qui fournit les meilleurs résultats dit GEDÆLST est celle au bleu polychrome d'Unna. A cet effet, on choisit une squame mince, que l'on dégraisse à l'éther, puis à l'alcool absolu additionné de 5 à 10 gouttes d'acide acétique cristallisable. On laisse agir cette dernière solution acide pendant 5 minutes. On lave ensuite à l'alcool absolu et on colore pendant 5 à 10 minutes dans un bain constitué par un demi-verre d'eau filtrée additionnée de 2 à 3 gouttes de bleu polychrome. On lave ensuite à l'alcool absolu, on passe au xylol et on monte au baume.

Pour obtenir une double coloration, il suffit, après avoir lavé à l'alcool absolu, de faire agir pendant 1 à 2 minutes quelques gouttes d'alcool saturé d'acide picrique. On lave ensuite à l'alcool absolu et on achève la préparation comme il vient d'être dit.

On peut remplacer le bleu polychrome d'Unna par la thionine phéniquée de Nicolle ou le bleu boraté de Sahli. Pour obtenir de belles préparations avec la thionine, il faut laisser agir le colorant en solution très étendue pendant 12 à 24 heures.

*Ensemencements et cultures.* — Même technique que pour les teignes. Voir page 231.

*Inoculations.* — Les inoculations sont pratiquées par scarifications quadrillées de la peau rasée, que l'on frotte avec un tampon de coton stérilisé imbibé avec un bouillon de culture soigneusement agité pour dégager les spores.

---

## CHAPITRE XXII

### PYRÉNOMYCÈTES

#### TECHNIQUE POUR LES PYRÉNOMYCÈTES

---

Les Pyrénomycètes vivent parfois en saprophytes sur des matières végétales en décomposition ou sur les excréments. La plupart sont parasites des végétaux supérieurs, des cryptogames vasculaires même des algues; quelques-uns vivent sur les insectes ou les arachnides, chez lesquels ils provoquent parfois des maladies mortelles. Les Pyrénomycètes se rencontrent en général plus fréquemment sous la forme conidienne qu'à l'état ascopore, ce dernier n'apparaissant que dans les conditions particulières et principalement aux approches de l'hiver. Les conidies et les spores de la plupart de ces champignons germent facilement sur les milieux artificiels, mais n'y donnent généralement que des formes conidiennes, rarement des périthèces.

*Technique générale* : Les méthodes d'examen des pyrénomycètes sont celles employées dans l'histologie des champignons (dissociation et coupes). Les coupes peuvent être pratiquées, soit sur des échantillons d'herbier rendus turgescents par ébullition dans l'acide lactique, soit enfin sur des échantillons conservés dans l'alcool. Les dissociations se font dans le bleu lactique, avec ou sans fixation préalable par l'alcool fort. Les milieux de cultures à employer sont ceux usités en bactériologie. Il faudra en général préférer les milieux solides et parfois il sera nécessaire d'avoir recours à des macérations ou à des décoctions des substances sur lesquelles le champignon se développe habituellement.

Les Laboulbeniacées sont presque exclusivement parasites des insectes, le plus souvent des Coléoptères, parfois des Diptères et

des Névroptères. Mais on en a également signalé sur quelques arachnides. Ces champignons se trouvent fixés aux téguments, sur lesquels ils forment de petites clavules de la taille d'un dixième à un demi-millimètre, brunâtres ou jaunâtres, isolées, réunies par paires ou groupées par petites plages.

*Technique* : La récolte des Laboulbeniacées se fait sur les insectes, soit vivants, soit conservés dans les collections entomologiques. On aura surtout les plus grandes chances d'en rencontrer sur les Coléoptères aquatiques, ou sur ceux qui vivent dans les herbes humides. L'insecte étant tué au chloroforme ou au cyanure de potassium, on l'examine à la loupe, et on enlève le champignon à l'aide d'une aiguille à dissection façonnée au burin. On le dépose dans une goutte d'eau sur une lame, puis, à l'aide de papier buvard, on enlève l'eau que l'on remplace par l'alcool et enfin on monte la préparation dans l'eau. Si on veut la conserver, on remplace l'eau par de la glycérine additionnée d'une trace d'alcool. (GUEGUEN).

---



## CHAPITRE XXIII

### GYMNOASCÉES

---

#### Technique pour les Gymnoascées.

##### Teignes.

L'examen microscopique peut porter sur le poils, les squames ou les produits de raclage du cuir chevelu. La même méthode peut servir dans l'un ou l'autre cas.

*Prélèvement de cheveux.* — On prélève les cheveux au moyen d'une pince flambée, mais sans aucune stérilisation préalable de la surface des lésions. On recueille une assez grande quantité de matériaux d'étude et on les dispose entre deux lames porte-objets, flambées et refroidies, qu'on roule ensuite dans une feuille de papier pour les conserver le temps qu'il sera nécessaire. Il faut autant que possible avoir le cheveu entier. Mais cela n'est pas toujours facile, dans ce cas il est utile d'en avoir des fragments le plus long possible (Sabouraud).

*Examen extemporané.* — On doit toujours pratiquer l'examen extemporané des éléments parasitaires après dissociation et éclaircissement de l'épiderme et du cheveu par l'immersion à chaud pendant quelques secondes, dans une solution de potasse caustique (30 grammes de potasse pour 70 grammes d'eau).

Une technique que SABOURAUD a beaucoup utilisé, avec ou sans coloration pour éclaircir le cheveu, est le chauffage de la squame ou du cheveu dans l'acide formique (BERDAL). Ce procédé

---

(1) Nous avons emprunté à Sabouraud toutes les méthodes indiquées dans ce chapitre. Nous avons eu à nous servir de toutes celles que nous indiquons ici et qui nous ont toujours donné les meilleurs résultats.

a sur le précédent un gros avantage : au lieu de rendre le cheveu friable en l'éclaircissant, il lui garde sa résistance à la rupture et à l'écrasement.

*Préparations permanentes.* — SABOURAUD qui a fait une très belle collection de préparations de teignes a effectué ces dernières en employant plusieurs procédés. Tantôt le cheveu, traité par la potasse à 30  $\mu$  100, est lavé à l'eau puis monté dans la glycérine, tantôt le cheveu est traité par l'acide formique et la préparation montée au baume. Chacun de ces procédés a ses inconvénients. Beaucoup de détails visibles dans la solution potassique disparaissent dans la glycérine. Mais tous les liquides conservateurs, par lesquels SABOURAUD a voulu remplacer la glycérine ne lui ont pas paru valoir mieux qu'elle. D'un autre côté le cheveu est moins bien éclairci par l'acide formique que par la potasse.

*Préparations colorées.* — Après l'action de la potasse, aucune coloration n'est bonne ; la potasse mordance le cheveu et ensuite les colorants les plus doux imprègnent le cheveu en masse. Voici la technique de la coloration dont SABOURAUD s'est constamment servi. La squame ou le cheveu sont dégraissés d'abord dans le chloroforme. Ils sont placés ensuite dans un verre de montre contenant de l'acide formique que l'on chauffe deux ou trois minutes jusqu'à ébullition. Après avoir bien lavé à l'eau distillée on colore pendant une minute dans un godet de bleu de Sahli. On lave, on déshydrate à l'alcool absolu, on passe au xylol et on monte au baume.

D'après SABOURAUD on doit rejeter toutes les méthodes de coloration par les couleurs opaques telles que le violet d'aniline; elles colorent en masse et dissimulent les détails qu'elles devraient indiquer.

#### MÉTHODE D'ADAMSON

1° Eclaircir le cheveu par un bain de 10 à 30 minutes dans une solution de potasse caustique 1,5 — 10 %.

2° Laver dans l'eau alcoolisée à 15 %, ce qui consolide le cheveu.

3° Sécher sur lame, et s'il s'agit d'écailles épidermiques, fixer en passant dans la flamme.

4° Colorer dans le bain usuel de violet de gentiane aniliné 1/4 d'heure à 1 heure.

5° 1-5 minutes dans la solution de Gram.

6° Décolorer dans l'huile d'aniline 2 à 3 heures et davantage.

7° Enlever l'huile au papier buvard et monter dans le baume du Canada.

### MÉTHODE DE COLHOUN

Immerger pendant deux minutes le cheveu dans une mixture faite d'une solution alcoolique à 5 % de violet de gentiane et d'eau d'aniline, 10 de la première pour 30 de la deuxième; éponger au buvard, traiter une à deux minutes par la solution iodo-iodurée de Gram, sécher de nouveau, traiter une fois par l'huile d'aniline iodée; éclaircir à l'huile d'aniline, laver au xylol, monter au baume.

### MÉTHODE DE WÄLSCH

Malcone Morris conseille, pour la photographie des Dermatophytes, d'user d'une autre méthode qui est la méthode de Wälsch à peine modifiée :

La voici :

Le cheveu d'abord lavé dans l'éther est placé dans une solution de violet de gentiane, 5 %, dans 70 % d'alcool. *Le Microsporum Audouini* se teint vivement en cinq minutes. *Les Trichophytions* doivent rester 1 heure dans la solution et y être chauffés cinq minutes.

On peut teindre en rouge de la même façon en substituant une solution de 5 % de fuchsine dans l'eau, avec un peu d'alcool, ou une solution à 2 % de fuchsine phéniquée. Le rouge est meilleur que le violet pour la photographie. Ensuite, le cheveu est passé dans l'iode pour fixer la couleur.

Il est ensuite décoloré par l'huile d'aniline ou dans un mélange de 2 à 4 gouttes d'acide nitrique dans l'aniline pendant 10 à 15 minutes; ensuite dans l'aniline pure et laissé quelques secondes puis lavé au xylol et monté ensuite au baume.

*Anatomie pathologique* : Les pièces que l'on peut être amené à examiner dans les dermatophyties, sont des biopsies d'herpès circiné de teigne tondante, ou faveuse, des godets faviques, etc.

SABOURAUD pratique leur fixation par le sublimé acide, soit par

le liquide de Dominici (1) dont les résultats, en ce qui concerne la fixation cytologique sont des plus satisfaisants.

On peut employer toutes les colorations pour colorer les coupes de ces pièces.

1° Le bleu polychrome de Unna (2) avec ou sans coloration seconde au tannin orange.

2° L'hématoxyline de Bolhmer; avec ou sans coloration seconde à l'éosine-orange (3).

3° L'éosine orange et le bleu de toluidine.

4° L'éosine orange (4) et le bleu polychrome.

Pour la coloration des coupes, BODIN préconise la méthode d'Anglade et Morel, par le bleu Victoria, avec ou sans coloration double par l'érythrosine.

SABOURAUD mentionne aussi le procédé de SABRAZÈS pour l'étude du godet favique par coupes sériées.

On colore le godet en masse dans le micro-carmin aluné, après fixation à l'alcool absolu. On colore ensuite les coupes par la méthode de Weigert modifiée : immersion d'une demi-heure dans une solution concentrée de violet de gentiane, et décoloration lente par l'huile d'aniline.

(1) Le liquide de Dominici se fait ainsi : Préparer à chaud une solution aqueuse saturée de sublimé, laisser refroidir à 45°.

Ajouter de la teinture d'iode, goutte à goutte, et en agitant le liquide, jusqu'à obtenir la teinte d'un vieux rhum, et s'arrêter au moment où la teinte commence à virer au rouge, avant que se produise un commencement de précipitation.

Après un quart d'heure, on voit la décoloration se produire, on ajoute de la teinture d'iode goutte à goutte, jusqu'à retrouver la première coloration; ce liquide ne se conserve pas et doit être fait au moment du besoin. Chaque pièce demande pour être fixée une grande quantité de liquide. Pour une pièce d'un demi-centimètre cube, il faut l'immerger dans cent centimètres cubes de solution. La fixation demande cinq à dix heures suivant la dimension de la pièce.

Laver ensuite, dix heures, la pièce dans l'alcool à 90°. La déshydrater pendant le même temps, à l'alcool absolu ou à l'alcool anhydre. Ensuite : éther-paraffiné à 38 degrés pendant 24 à 48 heures; paraffine fondue à 55°, une heure et demie à deux; inclure.

(2) a) Bleu polychrome de Unna 1 à 2 minutes, lavage à l'alcool sans lavage à l'eau.

(3) b) Lorsqu'on fait une deuxième coloration au tannin orange, on la poursuit jusqu'à ce que l'on aperçoit un commencement de décoloration du bleu.

(4) c) L'éosine orange en solution aqueuse à 1 p. 100 est employée plus ou moins longuement, suivant la couleur de fond que l'on veut obtenir, depuis trente secondes jusqu'à une heure. Bien laver à l'alcool absolu, et, si l'on veut décolorer, laver à l'alcool à 60 degrés. On colore ensuite au bleu de toluidine, à 1 p. 100, ou au bleu polychrome, 1/2 à 2 minutes. Xylol. Baume.

### Des méthodes d'ensemencement en général.

Les parasites des teignes sont d'une culture artificielle extrêmement aisée; sauf exception (cultures faviformes), on en obtient par une technique simple, des cultures presque d'emblée. Toutefois, comme le dit SABOURAUD à qui nous empruntons les méthodes ci-dessus indiquées, les procédés d'ensemencement seront un peu différents suivant qu'il s'agira de cultiver un dermatophyte, en partant d'une goutte de pus ou de sérosité, ou d'un cheveu, ou d'un poil de barbe, ou bien d'ensemencer le poil d'une bête, ou encore de la poussière d'ongle ou un godet favique. Tous ces cas se présentent en pratique et doivent être étudiés successivement.

*Herpès circiné.* — On fait rompre une pustule, du pus en sort. Avec une baguette de platine on en prélèvera une trace, qui sera ensemencée en stries, sur trois tubes successifs, sur milieu d'épreuve. S'il s'agit de vésicules, même technique.

Si les vésicules sont profondes, on les ouvrira d'un coup avec une aiguille, fer de lance flambé, ou bien on abraserà leur coupole d'un coup de ciseaux flambés; la prise de la gouttelette d'ensemencement et les cultures se faisant de même.

*Teigne tondante.* — Ou bien une teigne tondante présente des caractères analogues à l'herpès circiné, pustuleux ou sera pustuleux et on pratiquera la culture comme il est dit plus haut, ou bien on n'observe que des cheveux malades.

Sans aucune stérilisation préalable de la peau, ni des cheveux, on prélève un certain nombre de ces cheveux à la pince flambée, et on les dépose sur une lame de verre stérilisée. On découpe ensuite, avec un scarificateur, leur partie radiculaire, en quatre ou cinq parcelles punctiformes qui sont aussitôt ensemencées.

Pour les ensemencer, on flambe un fil de platine, avec lui on piquera la gélose qu'on va ensemencer, et ce fil de gélatine ainsi humecté, enlèvera par adhérence, une à une les parcelles punctiformes de cheveu qu'on vient de découper, et qu'on ira déposer, à la file sur un tube de gélose, chacune à un centimètre de sa voisine, quatre ou cinq par tubes.

*Barbe.* — Nulle différence ne sera faite entre un poil de barbe ou un cheveu d'enfant. Mais dans les trichophyties de la barbe, on fera bien de rechercher et d'ensemencer aussi le pus, la séro-

sité, ou la squame, comme dans l'herpès circiné des régions glabres.

*Poil d'animal.* — Les poils du cobaye, celui du cheval ne sont envahis par les dermatophytes que sur un ou deux millimètres de leur racine. On ne devra donc pratiquer le morcellement et l'ensemencement parcellaire que sur cette extrémité radiculaire seule en évitant soigneusement de porter sur les milieux de culture des fragments de la portion aérienne du poil.

*Ongle :* Quand un examen microscopique a démontré la présence d'un dermatophyte dans l'ongle, et que l'on désire en pratiquer la culture, on prélève soit une rognure d'ongle qu'on dissocie avec des aiguilles, ou on stérilise une lime à ongle et on lime la partie malade au-dessus d'une lame de verre stérile. On enseme.

*Godet :* De même on pratique l'ensemencement parcellaire du godet favique, après avoir écrasé, entre deux lames stériles, un fragment de son centre, en évitant d'ensemencer les parcelles provenant de sa surface (SABOURAUD).

#### Technique à l'étude du favus

Cette étude comporte la même série de recherches et d'opérations que celle des teignes trichophytiques.

##### 1° *Examen microscopique du parasite dans la lésion.*

Le cheveu favique doit être traité de la même manière que le cheveu trichophytique. MALASSEZ a proposé la méthode suivante pour monter les cheveux parasités en préparation permanente : 1° passage des cheveux dans l'alcool et l'éther pendant 24 heures; 2° passage dans l'alcool absolu pendant 12 heures; 3° action de la solution de potasse caustique à 40 % à froid jusqu'à éclaircissement complet du cheveu; 4° lavage à l'eau, puis avec une solution acide d'acétate de potasse pour enlever l'excès de potasse caustique; 5° colorer par l'éosine; 6° monter dans la glycérine.

*Isolement :* Le godet favique doit être dissocié à froid et à sec par écrasement et frottement entre deux porte-objets jusqu'à ce qu'il soit réduit en poussière.

Celle-ci est alors traitée par la potasse caustique, comme il a été dit pour les squames trichophytiques.

Le godet favique peut aussi être enrobé tout entier dans la



paraffine débité en coupes au microtome qu'on peut colorer soit par le violet de gentiane, le bleu de Unna, etc.

*Isolement du parasite* : Comme pour les trichophytons.

*Culture* : Le milieu de choix est celui de Sabouraud (1)

*Examen microscopique de champignon en culture artificielle* : Cet examen doit être fait exclusivement sur des cultures en goutte suspendue. C'est l'unique moyen pour avoir une idée exacte du parasite.

*Inoculations* : Difficiles à réaliser. Quand on se sert du godet favique comme matière à inoculer, on en introduit directement une parcelle au-dessus de la naissance de la queue chez la souris blanche et on ferme l'incision faite à cet effet à l'aide d'un point de suture.

#### **Recherche du *Microsporum minutissimum*.**

Pour mettre en évidence le parasite, SABOURAUD recommande la méthode suivante : On prélève des squames qu'on lave à l'éther et on en dissocie les éléments au moyen de l'acide acétique cristallisable; on laisse sécher, on lave à l'alcool, on colore par la thionine phéniquée, la méthode de Gram ou le bleu polychromatique de Unna (5 à 6 secondes). On déshydrate par l'alcool absolu, on passe au xylol et on monte au baume.

---

1. Rappelons que pour la culture, Sabouraud a proposé l'adoption internationale d'un, et même, de deux milieux d'épreuve.

## CHAPITRE XXIV

---

### MUCÉDINÉES

#### Technique pour les *Sporotrichum*.

Le diagnostic bactériologique de la sporotrichose est à la portée de tous les praticiens et bactériologistes.

Il suffit d'une seringue de Pravaz et d'un tube de gélose glycosée peptonée. On ensemence ce tube avec les produits pathologiques et on laisse végéter à la température ordinaire sans encapuchonner le tube.

« Au moment de l'ensemencement, disent DE BEURMANN et GOUGEROT, on a eu soin avec l'aiguille ou la pipette de faire couler une première goutte de pus sur le verre sec en face de la gélose et deux autres gouttes dans les angles que limite la surface plane de la gélose. Le tube est laissé comme d'habitude non encapuchonné, à la température ordinaire, dans une chambre chauffée autant que possible. Le *Sporotrichum* déposés sur le verre sec germe rapidement donnant de petites étoiles blanc gris, le parasite qui se trouve sur les bords de la gélose grimpent sur le verre sec. Bien avant d'être visibles à l'œil nu, ces colonies sont visibles au microscope. Il suffit pour les apercevoir de faire un examen du tube de culture au microscope sans faire de préparation.

Le microscope est incliné en arrière à  $+45^{\circ}$ , afin que l'eau de condensation, contenue dans le tube de culture, ne vienne pas mouiller le bouchon d'ouate. Le tube est donc placé sur la platine en ayant soin de tenir élevée son extrémité supérieure. On le cale à droite et à gauche avec des boulettes de cire ou de mastic. On examine avec un objectif 4 et avec un oculaire 6 ou 9 sans condensateur et avec le miroir concave.

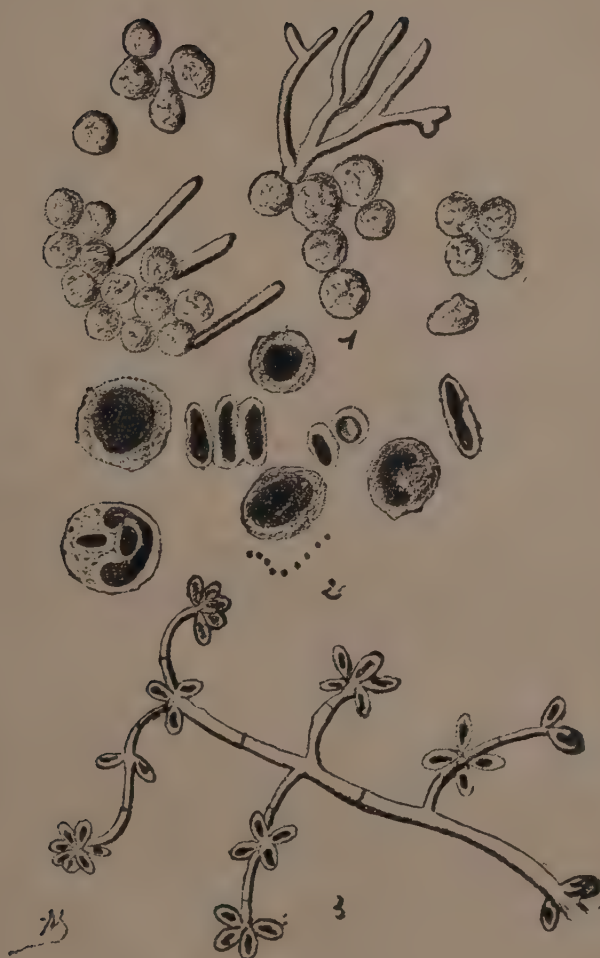


PLANCHE VI.

Recherche du *Sporotrichum Beurmanni*.

1 2, Examen du pus; 3, Culture en goutte pendante.



On cherche la traînée de pus sur le verre sec en guidant le tube avec les doigts. Dès qu'on a repéré cette traînée, on finit de caler le tube, et on le mobilisera alors avec les vis latérales de la platine, afin d'explorer méthodiquement du haut en bas de la traînée de pus sur le verre sec. Pour augmenter le grossissement, on pourra tirer l'oculaire du microscope.

**Technique à suivre pour la recherche des « Oospora » dans les crachats (Sartory-Lasseur).**

**ASPECT GÉNÉRAL DES CRACHATS.** — Les crachats sont généralement blancs avec des parties rouge orangé presque rouille, mais différent, cependant, des crachats d'un individu atteint de pneumonie. Souvent, l'expectoration exhale une odeur fétide, mais ce caractère n'est pas constant.

C'est dans les parties colorées en rouge (teinte plus ou moins rouillée) que nous avons trouvé, le plus souvent, le champignon pathogène.

*a) Technique.* — On promène (avec un fil de platine disposé en spatule) sur une lame de verre flambée une petite portion de crachat rouge orangé, il faut avoir soin de ne pas pratiquer une dessiccation trop énergique en faisant l'étalement. Sécher à  $+ 37^{\circ}$  et fixer par la chaleur.

*b) Coloration.* — On fait agir le violet de gentiane pendant deux minutes, puis la solution de GRAM deux minutes également. On décolore à froid avec l'alcool-acétone.

Les colorations sont très belles et montrent uniquement les organismes prenant le GRAM sur fond décoloré. On a l'impression d'une culture.

*Coloration :* La coloration des Oospora réussit parfaitement avec les matières basiques d'aniline. La méthode qui donne de bons résultats est la méthode de Gram et de Weigert. Pour mettre le parasite en évidence au sein des tissus, il convient de recourir à un procédé de double coloration qui est précieux dans le cas de l'actinomyose : on peut colorer les coupes d'abord par le violet de gentiane, ensuite par le picocarmin de WEIGERT. Le mycélium se montre alors coloré en bleu, tandis que les massues sont teintées en un beau rouge.

## Méthode de SCHLEGEL.

SCHLEGEL a indiqué et recommandé une méthode pour la recherche du parasite de l'actinomyose. On maintient pendant 4 à 5 heures au thermostat dans une solution alcoolique forte d'éosine, on lave rapidement dans l'alcool à 90°, on colore pendant 10 minutes dans l'hématoxyline ordinaire; on lave rapidement et on monte.

## Méthode de MOREL et DULAUS.

MOREL et DULAUS ont fait connaître une méthode de triple coloration qui fournit des préparations fort jolies des tumeurs actinomycotiques. Les coupes sont colorées d'abord pendant quelques minutes dans une solution d'hématoxyline de DELA-FIELD additionnée d'une quantité d'acide acétique suffisante pour donner à cette solution une teinte rougeâtre. On lave à l'eau et on traite les préparations pendant 2 à 3 minutes par la solution suivante :

Bleu Victoria . . . . .	1 gr.
Alcool . . . . .	40 c. c
Eau . . . . .	90 c. c <sup>3</sup>

On lave de nouveau à l'eau et on soumet pendant quelques instants les coupes à l'action de la solution iodée. On lave ensuite à l'alcool et on colore enfin avec la solution suivante :

Violet de rosaniline. . . . .	1 gr.
Alcool. . . . .	4 c. c <sup>3</sup> .
Eau . . . . .	90 c. c .

On lave encore à l'eau, on passe ensuite rapidement à l'alcool absolu et on décolore par un mélange à parties égales d'essence de cannelle et d'alcool absolu. Cette décoloration est très rapide et doit être arrêtée aussitôt que les coupes présentent une coloration rouge. On lave alors à l'alcool jusqu'à ce que la préparation a repris la teinte qu'elle avait présentée après l'action de l'hématoxyline. On éclaircit alors au xylol et on monte au baume : les noyaux avec des tissus sont colorés en violet lilas, le mycélium du champignon en bleu foncé et les renflements en rouge vif.

C'est une excellente méthode de coloration.



*Recherche des grains jaunes* : On prend un peu de pus actinomycosique qu'on étale sur une lame de verre ; on sèche, on fixe par l'alcool absolu et on colore en faisant d'abord un Gram, puis en faisant une double coloration par l'éosine.

On obtient d'excellents résultats par la méthode de Lignières qui n'est en somme qu'une simple modification de la méthode de Gram. On colore avec la solution de violet de gentiane phéniquée pendant 3 minutes environ ; on fait agir la solution iodo-iodurée pendant quelques secondes et on décolore rapidement avec

Alcool . . . . .	50
Acétone . . . . .	10
Acide acétique . . . . .	1

On ajoute ensuite :

Rubine acide (solution aqueuse saturée VI gouttes.)

On lave, on sèche et on monte au baume. Filaments et granulations sont colorés en bleu foncé et les corps en massus en rouge plus ou moins intense. Cette méthode est applicable aux coupes.

On peut aussi colorer par la méthode de Ziehl, mais au lieu de décolorer par un acide ou par la solution de chlorhydrate d'aniline, on décolore simplement par immersion prolongée dans l'alcool, après quoi on recolorera le fond de la préparation avec la solution aqueuse de bleu de méthylène.

#### Coloration des granulations dans les Oospora.

De même que le Bacille tuberculeux, les Oospora possèdent des granulations incluses à l'intérieur des filaments. Nous décolorons les granulations dans ces microorganismes par le procédé suivant que nous recommandons tout particulièrement.

1° Fixer à la chaleur par passage cinq à sept fois dans la flamme.

2° Colorer par le Ziehl trois à quatre minutes à chaud.

3° Laver à l'eau.

4° Colorer par le cristal violet phéniqué quatre à cinq minutes.

5° Faire agir la solution de Lugol quatre à cinq minutes.

6° Décolorer à froid par l'alcool-acétone.

7° Laver à l'eau.

8° Colorer au bleu de méthylène une minute.

9° Laver à l'eau.

Les granulations sont colorées en violet noir et le corps du mycélium en rose (SARTORY-LASSEUR).

#### Technique pour le *Malassezia furfur*.

Pour mettre le *Malassezia furfur* en évidence dans les squames de *Pityriasis versicolor*, on peut recourir à l'emploi d'une solution de potasse à 20-40 %, ou encore fixer simplement les squames par l'alcool absolu, les dissocier soigneusement et les colorer par l'éosine, le vert lumière.

Le chloroiodure de zinc fournit également de bonnes colorations du champignon.

#### Technique pour le parasite des bursatee-leeches.

Pour l'étude du parasite du bursatee-leeches (affection de nature mycotique qui sévit principalement sur les chevaux dans l'Inde (Burmah et Indoustan), FISCH recommande de fixer les tissus soit par l'alcool, soit par la liqueur de Muller, soit par un mélange picro-acétique de sublimé répondant à la formule suivante :

Alcool à 50 % . . . . .	1000 cc.
Acide acétique glacial . . . . .	5 cc.
Sublime corrosif . . . . .	5 gr.
Acide picrique . . . . .	1 gr.

Après un séjour de 24 à 48 heures dans ce liquide la pièce est lavée à l'alcool à 50 %, puis à 70 %, jusqu'à ce qu'elle soit complètement débarrassée de sublimé et d'acide picrique. Elle est ensuite enrobée et coupée par les méthodes usuelles. Les coupes sont colorées soit par le mélange de Biondi-Ehrlich, soit par le bleu de méthylène et l'éosine, soit par le bleu de toluidine, le rouge neutre ou la fuschine.

On peut observer le champignon en traitant les nodules pendant 12 à 24 heures dans une solution froide de potasse caustique à 10 % (GEDËLST).

#### TECHNIQUE POUR L'ETUDE DES PARASITES DES INSECTES

Pour faire une étude complète du cryptogame du hanneton par exemple, il est absolument nécessaire de recourir au microscope. Cette étude doit porter à la fois sur la masse interne

constituant le corps de la momie et sur le revêtement externe formant la moisissure blanche qui couvre plus ou moins le cadavre momifié.

L'examen microscopique doit porter : 1° sur des dilacérations des diverses parties que l'on veut étudier; 2° sur des coupes longitudinales et transversales faites soit à la main, soit au microtome à travers la momie.

Les coupes peuvent être obtenues après fixation au sublimé et à l'alcool absolu et inclusion dans la paraffine. GIARD a aussi employé, mais avec moins de succès, la fixation à l'acide osmique et l'inclusion dans le collodion (celloïdine). Il est impossible de se rendre compte, sans l'emploi des coupes, des rapports qui existent entre les parties du champignon situées à l'intérieur et à l'extérieur de la momie.

La masse interne de la momie se nomme *sclérote*.

*Rapports du sclérote avec l'appareil fructifère.* — Ces rapports ne peuvent être bien compris que par l'étude des coupes : Les coupes les plus instructives sont fournies par le procédé indiqué par GIARD pour l'*Isaria densa* sur une lame momifiée de hanneton.

On débite une momie en rondelles transversales (perpendiculaires au grand axe), épaisses de quelques millimètres; on place ces rondelles en chambre humide jusqu'à ce que la surface libre de la coupe commence à se couvrir de duvet blanc. On fait alors dans la rondelle une série de coupes longitudinales parallèles, par conséquent, au grand axe de la momie. On obtient ainsi des sections présentant à l'observateur :

1° Le tissu du sclérote.

2° La coupe de la cuticule du ver blanc.

3° Les hyphes fructifères développées naturellement à la surface de la cuticule.

1° Les hyphes fructifères développées en chambre humide directement sur le sclérote.

5° Sur quelques coupes on trouve en outre, au milieu du sclérote, la section du tube digestif de la larve momifiée.

## CHAPITRE XXV

### MÉTHODES BIOLOGIQUES AGGLUTINATION ET PRÉCIPITATION

---

Dans les humeurs des organismes soumis à l'action microbienne, il se forme des substances spéciales : les agglutinines et les précipitines, qui déterminent sur les microbes ou certains de leurs produits des phénomènes de coagulation particuliers. Ces réactions ne peuvent être prises pour spécifiques, mais elles peuvent toutefois donner d'utiles renseignements et fournir des éléments précieux pour le diagnostic.

#### RÉACTION D'AGGLUTINATION ET SÉRO-DIAGNOSTIC

Dans beaucoup d'infections la réaction agglutinante apparaît de bonne heure, elle augmente jusqu'à un optimum, diminue ensuite et disparaît au bout d'un temps plus ou moins long.

Les agglutinines passent fort bien dans les humeurs autres que le sang, c'est ainsi que l'on peut les rencontrer dans le lait, les larmes, l'urine, la salive, le pus, le liquide céphalo-rachidien, enfin dans diverses sérosités. Mais c'est surtout dans le sang qu'on les recherche.

C'est du sérum sanguin (1) que l'on utilise dans la grande majorité des cas, d'où le nom de *séro-diagnostic* qui a été appliqué à la méthode. D'abord employé pour le diagnostic de la fièvre

---

(1) Pour l'agglutination, on peut utiliser le sang entier. Dans ce cas, on aura un pouvoir agglutinant un peu plus fort. Pour un débutant, prendre du sérum un peu sanguinolent, les hématies lui faciliteront la mise au point.

typhoïde, le séro-diagnostic a été étendu à beaucoup d'autres infections microbiennes et cryptogamiques.

*Pratique de la séro-réaction.* — Que faut-il pour effectuer un séro-diagnostic?

1<sup>o</sup> Il faut disposer de sang, d'une part ;

2<sup>o</sup> De microbes, de l'autre.

L'un ou l'autre de ces deux éléments doit être parfaitement déterminé, c'est-à-dire que si l'on veut identifier un microbe, il faut être en possession d'un sang infectieux de nature certaine, ou plutôt d'un sérum d'animal immunisé à l'égard de l'infection recherchée : si, par contre, on veut identifier un sang ou un sérum, il faut disposer de la culture appropriée d'un microbe bien déterminé.

*Prélèvement du sang.* — Le plus souvent (et ce procédé donne d'excellents résultats) on a recours à la simple piqure au doigt au moyen d'un vaccinostyle (1). On lave le doigt, on le dégraisse à l'éther sulfurique au moyen d'un tampon de coton, on pratique une incision légère au doigt et on recueille 1 à 2 centimètres cubes de sang dans un petit tube stérilisé fermé par un bouchon de coton. On pourrait aussi utiliser le procédé à la ventouse qui donne une quantité de sang beaucoup plus grande. On laisse le sang se coaguler (2). Le sérum ne tarde pas, après un repos de quelques heures, à sortir du caillot. C'est ce sérum qui servira à pratiquer l'agglutination.

1<sup>o</sup> Agglutination microscopique ;

2<sup>o</sup> Agglutination macroscopique.

*a) Agglutination microscopique.* — Il est nécessaire d'avoir une culture très pure, ayant les éléments microbiens bien dissociés, ne formant entre eux aucun amas. Pour le bacille typhique, utiliser tout d'abord une race provenant de l'Institut Pasteur ou de laboratoires connus, etc. ; en un mot, utiliser un échantillon que l'on sait d'avance très agglutinable (toutes les races n'étant pas également agglutinables). Se servir de cultures de même richesse bactérienne, c'est-à-dire contenant une même quantité de bactéries pour un même volume. Estimer cette richesse par rapport au

---

(1) La méthode de prise du sang à la veine du pli du coude doit être préférée pour le procédé lent.

(2) La coagulation du sang n'est pas indispensable.

louche qui est produit, par exemple, avec le nitrate d'argent et le chlorure de sodium (solution à 0,20 p. 100) ou de bicarbonate de potassium (à 1 p. 100). Utiliser des cultures sur eau peptonée et non sur bouillon (ces dernières pouvant donner instantanément des amas) âgées de dix à vingt heures ou vingt-quatre heures au plus.

#### Sporo-agglutination et fixation mycosique.

Ces deux méthodes qui peuvent être d'un grand secours (sans toutefois vouloir en exagérer l'importance) pour le diagnostic des affections mycosiques sont dues à WIDAL et ABRAMI. Elles sont fondées la première sur les propriétés agglutinantes des sérums sporotrichosiques vis-à-vis des spores de *Sporotrichum Beurmanni* par exemple, la seconde sur la présence dans ce même sérum d'une sensibilisatrice spécifique.

#### Sporo-agglutination.

La technique de la sporo-agglutination est en tout points semblable à celle du séro-diagnostic microscopique de la fièvre typhoïde de Widal. La seule différence est dans la préparation de l'émulsion homogène du champignon.

« L'émulsion (1) homogène de spores de *Sporotrichum Beurmanni* doit être préparée en suivant la technique de WIDAL et ABRAMI. On a soin de prélever au moyen d'un fil de platine un gros fragment de culture sur gélose glycosée à 4 p. 100, âgée de six à douze semaines. Cette parcelle est broyée à sec au mortier, puis on ajoute goutte à goutte et lentement en continuant de broyer, quelques centimètres cubes d'eau salée à 8 p. 1000, le liquide trouble de broyage est ensuite filtré sur un petit entonnoir pourvu d'un filtre blanc ordinaire mouillé au préalable. Le produit filtré recueilli dans un tube à essai est homogène ; il ne contient que des spores isolées les unes des autres et pas de mycelium. On doit toujours s'assurer que les spores sont nombreuses et libres.

« Pour servir utilement au séro-diagnostic, cette émulsion

---

1). P. WIDAL et ABRAMI, séro diagnostic de la sporotrichose par la sporo-agglutination. La coagglutination mycosique et son application du diagnostic de l'actinomyose. La réaction de fixation. *Bull. et mém. de la soc. méd. des hosp. de Paris*, 19 juin 1908 n° 22 p. 947, et *Tribune méd.* 25 juillet 1908, n° 30 p. 455.



doit être suffisamment concentrée; trop clairsemées les spores ne s'agglutinent en effet que très lentement et forment des amas minimes; trop nombreuses, elles ont une tendance à se juxtaposer, et donnent ainsi lieu à de fausses agglutinations. Les émulsions qui renferment de 130 à 150 spores par champ microscopique (oc. 4 obj. 8 Stiassine) conviennent le mieux à cette recherche ». WIDAL, ABRAMI, BRISSAUD, JOLTRAIN et WEILL.

Ceci fait on dispose dans les verres de montre, au moyen d'une seule pipette que l'on a soin de rincer à chaque nouvelle prise.

des dilutions au  $\frac{1}{20}$ ,  $\frac{1}{50}$ ,  $\frac{1}{100}$ ,  $\frac{1}{200}$ ,  $\frac{1}{300}$ ,  $\frac{1}{400}$ ,  $\frac{1}{500}$ , de sérum du malade et d'émulsion homogène de spores. Ceci revient à dire qu'il faut prendre 1 goutte de sérum pour 20, 50, 100, 200, 300, 400, 500 gouttes de cultures. Cette opération terminée on prélève de chaque mélange deux gouttes sur lame, on recouvre au moyen d'une lamelle et on indique au moyen d'une étiquette le taux de la dilution et l'heure du mélange.

Ces dilutions successives sont examinées au microscope sur condensateur, avec un objectif sec (6, 7 ou 8) avec un oculaire 4, 6 ou 8 pendant les deux heures qui suivent le début de l'expérience.

L'émulsion témoin, dépourvue de sérum doit se conserver homogène pendant toute la durée de l'expérience et les spores doivent rester libres. Dans le cas du sérum sporotrichosique par exemple, mélangé à l'émulsion de spores, on constate généralement, après quelques minutes, que les spores s'immobilisent, se rapprochent les unes des autres et enfin s'agglutinent.

On dit que la sporo-agglutination est positive jusqu'à tel taux. « lorsque à cette dilution en 60 à 120 minutes à froid, il s'est encore formé des amas de spores, à la condition que le nombre de ces amas soit plus considérable que celui des spores libres. En effet une préparation témoin de spores sans sérum laissée pendant deux heures ne présente jamais d'amas ».

Le sérum des sporotrichosiques agglutine à des taux élevés  $\frac{1}{200}$  à  $\frac{1}{500}$  en moyenne  $\frac{1}{400}$ . Les sérums de malades atteints de certaines mycoses (Actinomyose, Oosporose, Muguet) coagglutinent, mais à des taux plus faibles, jamais au delà de  $\frac{1}{150}$  (WIDAL et ABRAMI).

GOUGEROT et CARAVEN ont observé une *Hémisporose osseuse*

primitive du tibia dont le sérum agglutinait les spores de *sporotrichum* à  $\frac{1}{400}$ .

*Cas où l'agglutination ne donne aucun résultat.* — Nous avons longuement recherché si la réaction agglutinante pouvait être applicable aux *Oospora* pathogènes et en particulier pour les *Oospora pulmonalis, buccalis*, (ROGER, SARTORY et BORY) et aussi pour l'*Oospora bronchialis* (SARTORY) découvert récemment.

Les réactions agglutinantes ont été essayées sur des cultures âgées de quarante-huit heures et rendues homogènes par de fréquentes agitations. Les résultats ont été négatifs alors même que le sérum n'avait été dilué qu'au 1/10. C'est que la réaction ne s'obtient que difficilement et rarement avec des fragments mycéliens. Il est nécessaire d'opérer sur des spores. Or chez les espèces que nous étudions les organes de fructification n'apparaissent que tardivement et ne sont jamais fort nombreux. Mais il est un autre procédé qui rend de très grands services pour déterminer le rôle pathogène des espèces microbiennes. C'est celui qui est bien connu aujourd'hui et qui est basé sur la déviation du complément. (Voir page 254).

---

## CHAPITRE XXVI

### PRINCIPES ET EXPLICATIONS NÉCESSAIRES POUR COMPRENDRE LA SÉRO-RÉACTION DE WASSERMANN

---

L'introduction, dans un tissu vivant, d'un élément étranger, provoque dans ce tissu des phénomènes dits « de défense », tendant à produire l'immunité vis-à-vis de cet élément. En particulier, l'inoculation à un animal d'une culture bactérienne modifie d'une façon notable les qualités du sérum sanguin.

Ces constatations peuvent avoir une certaine importance au point de vue clinique. Nous allons essayer d'exposer très succinctement ce que l'on entend par *réaction de fixation* ou *réaction de WASSERMANN*.

*Antigènes et anticorps.* — On appelle *corps* ou *antigènes* les éléments étrangers introduits dans l'organisme : 1° des végétaux (exemple : bactéries, levures, champignons) ; 2° des cellules animales (protozoaires, hématies, spermatozoïdes, etc.) ; 3° des matières albuminoïdes (caséine, etc.) ; 4° des toxines végétales proprement dites (abrine, ricine), etc., etc.

L'inoculation d'un ou plusieurs antigènes à un animal provoque les réactions de défense de l'organisme. Dans le sérum sanguin par exemple, on explique ce phénomène en admettant la présence de substances nouvelles : les *anticorps*.

Nous ne discuterons pas à fond la question des anticorps, mais nous constaterons simplement que le sang est devenu capable de lutter contre l'antigène avec de nouvelles armes. Et, fait plus

intéressant encore : après l'inoculation le sérum peut ou coaguler, ou précipiter, ou dissoudre l'élément étranger nocif pour l'organisme.

Pour préciser les faits, rappelons que l'inoculation d'un antigène bactérien (émulsion de vibrions cholériques, par exemple) confère au sang des propriétés telles que son sérum est devenu capable d'agglutiner, de dissoudre (cytolyser ou bactériolyser) les cellules bactériennes. On dit que ce sérum contient des anticorps : *agglutinine*, *alexine* et *sensibilisatrice*. Nous ne parlerons ici que d'alexine et de sensibilisatrice (Voir agglutination p. 244).

*Alexine*. — Le sérum normal contient, presque toujours en quantité notable, une substance peu active par elle-même, mais capable dans certaines conditions de produire une cytolyse rapide. Cet anticorps naturel est l'*alexine* de BORDET ou le complément d'EHRlich, ou la *cytase* de METCHNIKOFF, ou la *cytolysine* de NICOLLE.

Elle est *thermolabile* : un chauffage de trente minutes à + 56° la détruit.

L'alexine ne peut exercer ses propriétés (cytolytiques ou autres) que sur des antigènes ayant fixé préalablement un autre anticorps : la *sensibilisatrice*.

L'alexine ne jouit pas de propriétés spécifiques : elle agit également bien sur tous les antigènes sensibilisés.

*Sensibilisatrice* (ou encore : anticorps spécifique, ambocepteur, phylocytase, albuminolysine, substance intermédiaire). — Elle ne se trouve dans le sérum qu'après inoculation d'un antigène (sauf exceptions : sérum naturellement hémolytique, par exemple).

La sensibilisatrice résiste à un chauffage de trente minutes à + 56°. Elle est *thermostable*.

Seule elle n'exerce aucune action appréciable sur l'antigène qui a provoqué son développement ; mais cependant elle se fixe énergiquement sur cet antigène dans des proportions déterminées, et seulement sur lui, car elle n'a aucune affinité pour les autres antigènes.

RELATIONS ENTRE L'ALEXINE, LA SENSIBILISATRICE ET L'ANTIGÈNE. — Des expériences fort nombreuses ont démontré que l'*antigène bactérien* fixe d'abord la *sensibilisatrice*. Sur cette

combinaison : antigène + sensibilisatrice, se fixe à son tour l'alexine pour former une nouvelle combinaison : antigène + sensibilisatrice + alexine.

Ces combinaisons sont quantitatives : une proportion déterminée d'antigène fixe de la sensibilisatrice spécifique jusqu'à un certain maximum.

Si la quantité de sensibilisatrice dépasse ce maximum, il restera de la sensibilisatrice non fixée. Il en est de même pour l'alexine : un excès d'alexine par rapport à la quantité d'antigène sensibilisé restera libre, l'autre portion sera fixée pour former le complexe *antigène + sensibilisatrice + alexine*.

On admet aussi que l'antigène n'a pas d'affinité pour l'alexine, et que l'alexine n'a pas d'affinité pour la sensibilisatrice.

D'après ce que nous venons de voir, si nous avons une émulsion de bactéries (B) un sérum normal alexique A (ne contenant pas d'anticorps), un sérum (S), obtenu après inoculation des bactéries (B) et débarrassé de son alexine par chauffage (sérum inactivé), nous pouvons mettre en présence :

1° Les bactéries B et le sérum alexique A : après contact prolongé, si nous séparons par centrifugation, aucun des éléments ne sera modifié;

2° Les bactéries B et le sérum inactivé S : après contact et centrifugation, d'une part, les bactéries seront capables de fixer l'alexine de A, et, d'autre part, le sérum ne contiendra plus de sensibilisatrice si les proportions étaient convenables.

Dans toutes ces réactions, un seul des éléments est perceptible à nos sens : c'est l'antigène bactérien. Cependant, il n'est généralement pas modifié d'une façon apparente par la fixation de sensibilisatrice et d'alexine : il faut donc recourir à un artifice.

On se base alors sur la non-spécificité de l'alexine qui, se trouvant en excès, dans un sérum quelconque, peut se fixer sur **n'importe quel antigène sensibilisé**.

Les hématies sensibilisées d'un animal quel qu'il soit sont un réactif précieux de l'alexine, laquelle, provoquant l'hémolyse, donne naissance à un phénomène facilement appréciable et mesurable colorimétriquement.

On prépare des hématies sensibilisées de mouton par exemple, en injectant à plusieurs reprises à un lapin des hématies de mouton lavées; le sérum du lapin est inactivé par chauffage pour détruire l'alexine; en agitant ce sérum inactivé avec des hématies de mouton, on les sensibilisera et leur hémolyse sera provoquée

par une trace d'alexine quelconque. L'intensité de l'hémolyse sera en relation directe avec la quantité d'alexine, pour une même dose d'hématies sensibilisées.

On pourra déterminer la nature de la sensibilisatrice d'un sérum en inactivant le sérum et l'agitant dans plusieurs tubes avec un excès d'émulsion de différents antigènes; la sensibilisatrice étant spécifique, ne se fixera que sur l'antigène correspondant, et dans le tube où aura eu lieu la fixation une petite quantité d'alexine ajoutée ultérieurement sera fixée elle aussi; l'addition d'hématies sensibilisées ne donnera pas d'hémolyse.

Dans les autres tubes, au contraire, la sensibilisatrice n'étant pas fixée, l'alexine pourra se fixer et les hématies sensibilisées seront hémolysées.

WASSERMANN a appliqué cette réaction, due à deux savants : BORDET et GENGOU, pour le diagnostic de la syphilis.

Dans cette infection, le sérum doit contenir une sensibilisatrice que l'antigène (tréponème) fixera; l'addition d'alexine en petite quantité et d'hématies sensibilisées donnera lieu à l'hémolyse si l'alexine n'est pas fixée, c'est-à-dire si le sérum n'est pas syphilitique (réaction négative). Il n'y aura pas hémolyse si le sérum contient la sensibilisatrice spécifique pour le tréponème, puisque dans ce cas l'alexine sera fixée (réaction positive).

La technique exige l'emploi de réactifs d'une préparation longue et délicate.

Le sérum malade doit être inactivé par chauffage de trente minutes à 56°.

L'antigène est constitué par de la pulpe fraîche de foie de fœtus hérédosyphilitique ou des extraits aqueux ou alcooliques de ces mêmes foies.

L'alexine est du sérum frais de cobaye, animal dont le sang ne contient pas de sensibilisatrices naturelles.

Des hématies sont celles du mouton, sensibilisées par du sérum de lapin-mouton inactivé.

Comme on le voit, il faut déjà posséder un laboratoire bien agencé et une expérimentation très exercée pour cette réaction.

Après les constatations de NOGUCHI, BAUER, TCHERNOGOUBOW, FOIX, etc., on a simplifié cette méthode et voici, à titre de renseignement, la technique de NOGUCHI décrite par JOLTRAIN.

Le sérum humain contient des sensibilisatrices autres que celles provenant de l'infection syphilitique recherchée; il contient généralement peu d'alexine, et cette alexine paraît être



fixée plus facilement que celle du cobaye sur un antigène quelconque.

NOGUCHI emploie le sérum de cobaye, plus alexique que le sérum humain. La méthode est rendue plus pratique par l'emploi de papier imprégné de la sensibilisatrice hémolytique et d'antigène.

Le sérum contenant la sensibilisatrice est obtenu par injections d'hématies humaines à un lapin; on inactive, on titre la sensibilisatrice et on en imprègne des papiers à filtrer qu'on a fait sécher dans le vide. On titre de nouveau après quelques jours. La conservation est assez bonne.

On prépare l'antigène en faisant un extrait alcoolique de foie de fœtus hérédosyphilitique, dont on imprègne également des papiers à filtre.

Le sérum à étudier est obtenu par piqûre au doigt. On recueille dix à vingt gouttes de sang dans une pipette qu'on ferme; après coagulation, on prélève une goutte de sérum frais ou quatre gouttes de sérum inactivé pour chaque tube à essai (ou bien encore 0 cm<sup>3</sup>1 à 0 cm<sup>3</sup>2 de liquide céphalo-rachidien).

On prépare deux séries de tubes :

La première série reçoit le sérum suspect et le sérum témoin.

Par exemple :

Le n° 2	reçoit	1	goutte	de sérum	cert.	syphil.
Le n° 3	—	1	—	—	—	sain.
Le n° 4	—	1	—	d'eau	physiologique.	

On ajoute un carré de papier imprégné d'antigène (5 millimètres carrés), 1 centimètre cube d'émulsion d'hématies, 0 cm<sup>3</sup> 1 de sérum alexique de cobaye.

On laisse au bain-marie à + 37° pendant une heure. Puis on ajoute un carré de papier imprégné de sensibilisatrice, et l'on reporte au bain-marie à + 37° pendant une heure en agitant à plusieurs reprises.

La deuxième série (1', 2', 3', 4') est préparée de manière identique, seulement on n'ajoute pas d'antigène.

Si le sérum suspect est syphilitique, il n'y aura pas hémolyse dans le tube 1, mais hémolyse dans le tube 1' qui ne contient pas d'antigène; de même pour 2 et 2'. Les tubes contenant le sérum sain et l'eau physiologique donneront l'hémolyse dans les deux séries.



Il nous paraît indispensable de toujours contrôler la méthode rapide de NOGUCHI par la méthode lente classique.

Voici comment on dispose une expérience, tous les examens du sérum devant être conformes à cette expérience type, à part les témoins système hémolytique, antigène seul et sérum normal, qu'il suffit de faire une fois pour toute la série (à condition de faire toute la série le même jour) (1).

### RÉACTION DE FIXATION

La technique pour la réaction de fixation est celle de toutes les fixations seriques, la différence réside dans la préparation de l'antigène. WIDAL et ABRAMI ont utilisé le procédé classique de BORDET-GENGOU utilisé dès le début par WIDAL et LE SOURD pour le diagnostic des fièvres éberthiennes.

La technique que nous avons suivie, disent WIDAL et LE SOURD, n'est qu'une modification de celle de MM. BORDET et GENGOU. Un centimètre cube de sérum à éprouver, préalablement chauffé à 56° pendant 30 minutes est mélangé à un demi-centimètre cube de l'émulsion de sporotrichum; puis on ajoute à ce mélange 0 cm<sup>3</sup> 3 de sérum frais de cobaye, dilué de moitié à l'aide d'eau chlorurée à 8 p. 1000, enfin un demi-centimètre cube d'eau chlorurée à 8 p. 1000. Le tube contenant ces différentes substances, est agité puis porté à l'étuve à + 37° pendant 4 heures. Au bout de ce temps on y ajoute 0 cm<sup>3</sup> 3 de sérum de lapin anti-mouton, chauffé à 56° pendant 30 minutes et 0 cm<sup>3</sup> 1 d'hématies lavées de mouton, diluées dans 0 cm<sup>3</sup> 5 d'eau chlorurée à 6 p. 1000. On sait que dans de pareilles conditions, si le sérum éprouvé renferme une sensibilisatrice, celle-ci absorbée par la culture mise en sa présence, détermine la fixation du complément du cobaye, pendant la première partie de l'expérience. Ce complément ayant ainsi disparu du mélange les hématies sensibilisées qu'on y ajoute ne subissent pas d'hémolyse et se conservent intactes. Au contraire, si l'hémolyse se produit, c'est que le complément n'a pas disparu du mélange et par conséquent que le sérum éprouvé ne contenait pas de sensibilisatrice (WIDAL et ABRAMI).

Ces derniers auteurs ont rendu la réaction plus certaine en remplaçant les globules de mouton par les globules humaines;

---

(1) Si l'on désire connaître dans tous ses détails la réaction de WASSERMANN, lire l'excellent livre de M. P. F. ARMAND-DELLILLE : *Techniques du diagnostic par la méthode de déviation du complément*.

Type de réaction de Wassermann d'après Armand-Delille.

	I				II		RÉSULTATS après une demi-heure d'étuve à + 38°
	Extrait alcoo- lique de foie syphili- tique dilué à 1/10 dans l'eau physio- logique	Sérum syphi- litique chauffé	Alexine (sérum de cobaye neuf dilué au 1/4 ou vieux de 15 jours)	Eau physio- logique	Globules de mouton à 5 p. 100	Sérum hémolytique chauffé	
Témoins.	0,1	0,2	0,1	0,5	I	0,1	H. légère ou nulle.
	0,2	0,2	0,1	0,4	I	0,1	H. nulle.
	0,3	0,2	0,1	0,3	I	0,1	H. nulle.
—	0	0,2	0,1	0,6	I	0,1	H. totale.
	Id.	Sérum normal chauffé	Id.	Id.	Id.	Id.	
	0,1	0,2	0,1	0,5	I	0,1	H. totale.
—	0,2	0,2	0,1	0,4	I	0,1	H. totale.
	0,3	0,2	0,1	0,3	I	0,1	H. totale ou presque totale.
—	0,1	—	0,1	0,7	I	0,1	H. totale.
	0,2	—	0,1	0,6	I	0,1	H. totale.
	0,3	—	0,1	0,5	I	0,1	H. totale.
	Système hémolytique.		0,1	0,8	I	0,1	H. totale.
	Alexine seule.		0,2	0,9	I	—	H. nulle.

le malade fournit à la fois le sérum à éprouver et les globules rouges humaines (il faut donc préparer un lapin humain).

Voici l'emploi du temps :

1° Recueillir le sang du lapin anti-humain par saignée de la carotide ou d'une veine de l'oreille après xylologage.

2° Titrer le sérum anti-humain, le décanter, le distribuer en ampoules, le chauffer à  $+ 55^{\circ}$ , le conserver à la glacière.

3° Recueillir le sang des malades-témoins, le conserver à la glacière.

4° Préparer et faire stériliser les tubes, pipettes et eau salée.

5° Décanter les sérums des malades témoins.

6° Recueillir le sang du malade par ponction veineuse.

En faire deux parts immédiatement : l'une recueillie dans un liquide anti-coagulant donnera les globules rouges réactifs; l'autre, qu'on laisse coaguler, fournira le sérum.

On hâtera la séparation du sérum par centrifugation.

Décanter, mettre en boule prête à être chauffée.

7° Chauffer les divers sérums à  $+ 56^{\circ}$  au bain-marie.

8° Préparer l'antigène.

9° Titrer l'antigène.

10° Recueillir le sérum de cobaye (complément), le diluer à partie égale d'eau salée, défibriner, centrifuger, décanter.

11° Titrer le complément.

Ces deux temps, 11 et 12 doivent être pratiqués le plus vite possible et le complément doit être utilisé aussitôt.

12° Faire le premier mélange.

Sérum humain. . . . .	0 cm <sup>3</sup> .3
Antigène . . . . .	0,1 0,2 0,3
Cobaye (Alexine). . . . .	0,1
Eau salée à 8 p. 1000. . . . .	1,5

13° Laisser à l'étuve à  $+ 37^{\circ}$  pendant *trois heures*.

14° Ajouter au premier mélange la dose connue du sérum de lapin hémolytique, dilué (par exemple 0,1) et 0,1 centimètre cube de globules rouges humains centrifugés dilués dans 0,5 d'eau salée à 7 p. 1000.

15° Reporter à l'étuve et surveiller.

16° Centrifuger dès que l'hémolyse s'est produite dans le tube témoin.

Les doses indiquées sont les doses habituelles mais il ne faut pas oublier qu'il faut : 1° doser l'antigène, 2° le sérum hémolytique; 3° Le complément de cobaye. Le complément de cobaye.

devant être employé frais devra être dosé à chaque nouvelle épreuve des tubes témoins avec du sérum de malades non mycosiques et si l'on peut avec du sérum de sporotrichosique (1).

Forix a proposé une modification à cette technique. Il ne se sert plus de système hémolytique anti-humain ou anti-mouton, ce qui facilite singulièrement l'opération car il existe dans tous sérums humains une hémolysine naturelle vis-à-vis des globules rouges de lapin et de mouton. Les globules rouges réactifs qui serviront à l'hémolyse sont donnés par le lapin. On prépare :

1° *Eau salée à 8 p. 1000*, répartie en tubes à essai et stérilisée.

2° *Sérum du malade à éprouver chauffé à + 56°*. Nous n'insistons pas sur la manière de prendre le sang. Les sérums humains doivent être éprouvés le plus vite possible.

3° *Sérum frais alexique de cobaye* (complément). On verse au plus tôt le sang dans des tubes à centrifuger et on centrifuge pendant dix minutes afin de séparer les globules rouges.

Le liquide surnageant est limpide, incolore ou légèrement rosé. Il doit être employé dans les deux ou trois heures qui suivent l'extraction (NICOLLE et POZERSKI). BEZANÇON conseille de le mettre à la glacière pendant 12 à 14 jours. Il est prudent de le titrer.

4° *Antigène*. Pour la préparation de l'antigène on se sert d'une culture de *Sporotrichum Beurmanni* ayant poussé sur n'importe quel milieu, l'âge de la culture est indifférent. La gélose glycosée donne de belles cultures. Dans ce cas employer une culture âgée de 1 à 4 mois que l'on broie dans un mortier avec de l'eau salée à 8 p. 1000 que l'on ajoute goutte à goutte jusqu'à obtention d'une émulsion « dense, opaque » sans grumeaux. Ne pas filtrer. Il est prudent de doser l'antigène.

Nous empruntons à MM. de BEURMANN et GOUGEROT l'exposé de ce dosage.

« Le dosage est pratiqué comme pour la réaction de fixation diagnostique, mais l'inconnu est ici la dose d'antigène, alors que dans l'épreuve diagnostique, ce sont les sérums qui représentent l'inconnu. On dispose donc deux séries parallèles de tubes avec les mélanges habituels, l'une avec le sérum mycosique, l'autre

1 Cette technique est discutée tout au long dans le livre si documenté de MM. de BEURMANN et GOUGEROT : *Les sporotrichoses*, page 583.

avec le sérum non mycosique : de tube en tube on verse une quantité croissante d'antigène dilué ou non, 1, 2, 3, 4, 5, 6 gouttes. La dose ( $= N$ ) sera la dose minima qui fixe avec le sérum mycosique. Cette dose  $N$  et les doses  $N1 + N + 2$  ne doit pas fixer avec le sérum non mycosique, elle sera donc inférieure à la dose forte d'antigène qui fixe spontanément le complément avec les sérums non mycosiques. Tout au plus  $N + 2$  devra-t-il donner une hémolyse presque totale; si l'on n'obtenait pas cette élasticité, il suffirait de diluer l'antigène et on recommencerait le titrage.

Ces quatre produits étant préparés, on fait les mélanges suivants dans de petits tubes à essais de 5 centimètres environ de longueur, disposés dans un porte-tubes à douze places et munis de bouchons de caoutchouc. Toute réaction doit comprendre les témoins c'est-à-dire au moins les 12 tubes suivants (voir p. 259).

Les gouttes sont versées avec une pipette banale qui doit être la même pour toute l'opération; il suffit de la rincer à chaque prise d'un nouveau produit en y aspirant deux à trois fois dans l'eau salée. L'eau salée est versée en deux fois; au début afin que les autres produits soient dilués; à la fin pour laver les parois du tube sur lesquelles une goutte d'un produit précédent aurait pu s'arrêter. On numérote les tubes, on les bouche, on agite, on les porte à l'étuve à  $+ 37^{\circ}$ , et on les y laisse 3 heures. Pendant ce temps on prépare l'émulsion de globules rouges de lapin à 10 p. 100. Cette émulsion est facile à fabriquer extemporanément, en prenant un lapin quelconque non préparé, on frotte l'oreille avec du xylol, une vaste dilatation se produit, on pique une petite veine avec la pointe d'un bistouri, le sang coule abondamment; on recueille avec une pipette et on en verse 10 gouttes dans un tube à essai contenant 100 gouttes du liquide suivant : eau 1.000; chlorure de sodium 8; citrate de soude 6.

On bat immédiatement le liquide avec la pipette afin de « défibriner ». Au bout de trois heures on verse dans chacun des tubes cinq gouttes de l'émulsion de globules rouges; on rebouche les tubes, on agite vigoureusement et on les reporte à l'étuve à  $+ 37^{\circ}$ . Dès que les tubes 4, 8, 12 (l'hémolyse se fait entre quinze et soixante minutes) sont hémolysés, on retire les tubes de l'étuve. On centrifuge pendant deux à trois minutes, afin que le liquide surnageant soit limpide; s'il y a hémolyse le liquide est rose ( $H^1$ ), rouge ( $H^2$ ), rouge intense ( $H^3$ ), et il ne reste plus de culot de globules rouges au fond des tubes. S'il n'y a pas d'hémolyse, le

liquide reste incolore (H<sub>0</sub>) ou est à peine teinté de jaune rose (H<sub>μ</sub>) et il reste au fond des tubes un petit culot de globules rouges pulvérulents, non détruits.

Les résultats sont les suivants :

Sérum à éprouver	1 <sup>er</sup> tube	Si le malade est sporotrichosique, pas d'hémolyse (H <sub>0</sub> ), ou l'hémolyse partielle légère (H <sub>μ</sub> ) [= Réaction positive].
	2 <sup>e</sup> tube	
	3 <sup>e</sup> tube	Si le malade n'est pas sporotrichosique, l'hémolyse totale (H <sup>3</sup> ) [= Réaction négative].
Sérum à éprouver	4 <sup>e</sup> tube	Hémolyse (H <sup>3</sup> ), ce tube dépourvu d'antigène sert de témoin à cette série et doit être hémolysé.
	5 <sup>e</sup> tube	Hémolyse totale (H <sup>3</sup> ) = Réaction négative].
Sérum témoin non mycosique	6 <sup>e</sup> tube	
	7 <sup>e</sup> tube	
	8 <sup>e</sup> tube	
Sérum témoin mycosique certain	9 <sup>e</sup> tube	Pas d'hémolyse (H <sub>0</sub> ) ou (H <sub>μ</sub> ) [= Réaction positive].
	10 <sup>e</sup> tube	
	11 <sup>e</sup> tube	Hémolyse totale (H <sup>3</sup> ) témoin de cette série.
	12 <sup>e</sup> tube	

	SÉRUM INCONNU A ÉPROUVER				SÉRUM TÉMOIN CONNU NON MYCOSIQUE				SÉRUM TÉMOIN CONNU MYCOSIQUE			
	1 <sup>er</sup>	2 <sup>me</sup>	3 <sup>me</sup>	4 <sup>me</sup>	5 <sup>me</sup>	6 <sup>me</sup>	7 <sup>me</sup>	8 <sup>me</sup>	9 <sup>me</sup>	10 <sup>me</sup>	11 <sup>me</sup>	12 <sup>me</sup>
Eau salée	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15 gouttes
Sérum humain inactivé	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5 gouttes
Sérum de Cobaye	2+3	2+3	2+3	2+3	2+3	2+3	2+3	2+3	2+3	2+3	2+3	2+3 gouttes
Antigène	N	N+1	N+2	0	N	N+1	N+2	0	N	N+1	N+2	0 gouttes
Eau saline	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10 gouttes

(Arrêté de Beermann et Gougerot.)

En résumé *Hémolyse* -- Réaction négative = pas de sensibilisatrice = pas de sporotrichose.

Pas d'hémolyse ou l'hémolyse faible = réaction positive = présence de sensibilisatrice = sporotrichose ou mycose (1).

La réaction de fixation ne peut donc donner que le diagnostic général de mycoses ou plutôt d'un groupe de mycoses.

1 Pour plus de détails voir De BEERMANN et GOUGEROT loc. cit. où ces renseignements ont été pris.



**Technique à employer pour la fixation du complément  
dans les cas d'oosporoses.**

ROGER et BORY ont appliqué la technique de la fixation du complément pour la recherche des oosporoses. De notre côté nous avons employé avec succès cette méthode d'investigation. Dans une première série de recherches nous avons utilisé la technique préconisée par WASSERMANN pour la séro-réaction de la syphilis. L'antigène était constituée par une culture pure et vivante d'oospora. Cette culture était âgée de trente-six heures et avait été rendue homogène par de fréquentes agitations; des tubes témoins nous ont permis de constater que le bouillon maltosé employé pour la culture du végétal ne gêne en rien la réaction.

Le sérum du malade provenait d'une prise de sang faite aseptiquement dans une veine du pli du coude; il avait été inactivé par un chauffage à 56° pendant une demi-heure.

Nous utilisons comme complément du sérum frais de cobaye dilué de son volume avec de l'eau salée à 8 p. 1000. Le système hémolytique est constitué par des globules rouges de mouton, dilués à 5 p. 100 et la sensibilisatrice d'un sérum de lapin préparé.

Après avoir versé dans les tubes le sérum du malade, la culture, le complément et le sérum physiologique, nous plaçons les mélanges à l'étuve à 38° et nous les laissons pendant quatre heures. Ce temps est nécessaire pour permettre une bonne fixation qui se fait toujours plus lentement avec des corps mycéliens qu'avec des bactéries. Le système hémolytique (sensibilisatrice et globules rouges) est ajouté ensuite et les tubes placés à l'étuve pendant une heure. Le tableau suivant indique les résultats obtenus après centrifugation pour *Oospora bronchialis* (SARTORY .

TUBES	SÉRUM DU MALADE	CULTURE	COMPLÉ- MENT	EAU SALÉE	SENSIBIL- SATRICE	GLOBULES ROUGES 5 %	HÉMOLYSE
	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>
1 . . .	0,2	0,2	0,1	1,4	0,1	1	+
2 . . .	0,2	0,4	0,1	1,2	0,1	1	0
3 . . .	0,2	0,6	0,1	1,	0,1	1	0
4 . . .	0,2	»	0,1	1,6	0,1	1	+
5 . . .	»	0,2	0,1	1,6	0,1	1	+
6 . . .	»	0,4	0,1	1,4	0,1	1	+
7 . . .	»	0,6	0,1	1,2	0,1	1	+
8 . . .	»	»	0,1	1,8	0,1	1	+
9 . . .	»	»	»	2	»	1	0



Le sérum du malade (tube 4) ne déviait donc pas à lui seul le complément; la culture pas davantage (tubes 5, 6, 7). Le doute est impossible, le sérum contenait une sensibilisatrice spécifique dans l'*Oospora*.

Dans une deuxième série de tubes, nous avons contrôlé en quelque sorte les résultats précédents, en augmentant la dose de sérum et en utilisant dans un cas, comme dans l'expérience précédente, des globules rouges à 5 p. 100, et dans l'autre, une proportion plus élevée atteignant 20 p. 100.

TUBES	SÉRUM DU MALADE	CULTURE	COMPLÉ- MENT	EAU SALÉE	SENSI- BILI- SATE	GLO- BULES ROUGES	HÉMOLYSE
	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup>
1 . . .	0,5	0,4	0,1	0,9	0,1	1	0
2 . . .	0,5	"	0,1	0,3	0,1	1 20 %	+
1 . . .	1	0,5	0,2	0,5	0,3	0,6	±
2 . . .	1	"	0,2	1	0,3	0,6	Hémolyse légère. +

Ces constatations apportent un appoint précieux en faveur du rôle que cette espèce remplit dans le développement des lésions pulmonaires.

Un troisième essai fut effectué. Le tableau suivant montre le résultat nettement positif de la réaction.

TUBES	SÉRUM DU MALADE	CULTURE OOSPORE DU MALADE	COMPLÉ- MENT DE COBAYE A 1/2	EAU SALÉE A 9 %		AMBO- CEPTEUR	GLO- BULES ROUGES A 5 %	HÉMO- LYSE
1. . .	0,2	0,05	0,1	1,55	Une heure et demie d'éluve à 38°	0,1	1	+
2. . .	0,2	0,1	0,1	1,5		0,1	1	±
3. . .	0,2	0,2	0,1	1,4		0,1	1	±
4. . .	0,2	0,3	0,1	1,3		0,1	1	0
5. . .	0,2	"	0,1	1,6		0,1	1	+
6. . .	"	0,05	0,1	1,75		0,1	1	+
7. . .	"	0,1	0,1	1,7		0,1	1	+
8. . .	"	0,2	0,1	1,6		0,1	1	+
9. . .	"	0,3	0,1	1,5		0,1	1	+
10. . .	"	"	0,1	1,8		0,1	1	+
11. . .	"	"	"	1,9		0,1	1	0

Nous avons complété la série de nos recherches par l'inoculation aux animaux et notamment aux cobayes. Le champignon était pathogène pour le cobaye et le lapin.

## 2<sup>e</sup> BASIDIOMYCÈTES

Avec quelques généralités sur d'autres cryptogames.

Si l'on observe un champignon parvenu à son complet développement on pourra constater qu'il s'en échappe une très fine poussière, tantôt incolore, tantôt colorée. Chaque grain de cette poussière est une véritable semence et ce que l'on nomme une *spore*. Celles qui rencontrent un milieu favorable entrent en germination, s'allongent dans une ou deux directions et produisent de minces filaments qui sont l'état initial de nouveaux champignons. Ces filaments pénètrent au sein des substances sur lesquelles ils ont pris naissance, ou rampent à leur surface, se ramifient, se soudent, s'entrelacent de diverses façons et finissent par donner un lacis inextricable, ayant les apparences des moisissures. Cet ensemble reçoit le nom de *mycélium*.

Le temps pendant lequel les champignons restent à l'état de mycélium est variable, mais généralement la fin de cette période s'annonce par l'apparition, en divers points du mycélium, de petits boutons globuleux qui augmentent bien vite de volume. Ces productions peuvent rester cachées dans le sol (Truffe) mais le plus souvent elles se font jour à travers les matières qui les recouvraient et viennent s'épanouir à la lumière. Cette *masse charnue* peut être comparée à la *fleur de champignon*. C'est l'*appareil producteur*, le mycélium étant l'*appareil végétatif*.

L'appareil reproducteur comprend une partie fertile, l'*hyménium*, une partie stérile, le *réceptacle*, ce dernier servant de support ou d'enveloppe à la première.

### Récolte du champignon.

La récolte exige beaucoup d'attention. On fera bien de cueillir une même espèce à différents âges : jeune, adulte et déjà vieille. Arracher le champignon délicatement sans le froisser en respectant *très soigneusement* la base du pied.

On notera avec précision et exactitude :

1<sup>o</sup> *La localité* (prairie, forêt feuillue, forêt de sapins, pins, hêtres, etc..., sol granitique, calcaire sablonneux, etc.)

2<sup>o</sup> *La station* : à terre, sur une souche de hêtre, sapin, etc...

3° *La forme* avec toutes ses particularités (prendre les dimensions approximatives).

4° *La couleur* des différentes parties et de la chair.

5° *La consistance* : fragile, élastique, molle, ferme, coriace, subéreuse, ligneuse.

6° *L'odeur et la saveur*. Ces caractères sont constants et par conséquent ont une grande importance. Après avoir aussi complètement étudié le champignon vivant il ne s'agit plus que de le déterminer. Pour cela on compare l'échantillon tout frais et les notes qu'on a prises avec les descriptions et figures des auteurs.

### MYCÉLIUM

Le mycélium peut donc être envisagé comme l'ensemble des filaments auxquels la germination des spores a donné naissance.

Il peut être blanc, rarement jaune, rouge brun ou noir.

#### Différentes sortes de mycélium.

*Mycélium filamenteux* : Mycélium qui s'entrelacent de mille manières, s'anastomosent, se soudent dans toute leur étendue et produisent de la sorte un réseau lâche et irrégulier. Le plus nombreux.

*Mycélium membraneux* : Produisant une toile serrée (*Rhacodium cellare*, *Xylostroma-giganteum*).

*Mycélium fibreux* : Donnant des cordons simples ou rameux Lycoperdons, Phalloïdés.

*Mycélium scléroïde* : Produisant des tubercules de forme et de grosseur variables. *Collybia tuberosa*.

*Mycélium malacoïde* : Formant une masse visqueuse due à un mucus ou de la gelée. Propre à la famille des MYXOMYCETES. *Fuligo septica* (fleurs du tan ou tannée fleurie).

Le mycélium ne vit généralement que peu de temps, celui de la truffe est rarement observable.

Les amanites perdent aussi leur mycélium peu de temps après l'apparition du réceptacle.

Chez d'autres champignons le mycélium est vivace. Dans ce cas très souvent il produit un phénomène particulier. Il s'agit de la disposition en cercle qu'affectent souvent les champignons. Le peuple qui attache à cette figure certaines idées superstitieuses, lui a donné le nom de *cercle du sabbat* ou de *rond de sorcières*.

### Réceptacle.

On a donné le nom de réceptacle à la partie du champignon qui naît du mycélium et de laquelle naîtra à son tour l'hymenium. Le réceptacle comprend donc tout ce qui, dans le champignon, est intermédiaire entre le mycélium et les cellules où se produisent les spores.

### Différentes formes de réceptacles.

*Réceptacle gymnocarpe* ou à fructification nue; il consiste en une masse celluleuse dont la surface est recouverte en tout ou en partie par l'hymenium. Ex. : Les Agarics.

*Réceptacle angiocarpe* ou à fructification renfermée dans des capsules. Masse celluleuse dont l'intérieur est creusé de cavités dans lesquelles se forme l'hymenium. (Lycoperdacés.)

*Réceptacle simple ou filamenteux*. C'est celui des moisissures.

### Réceptacle gymnocarpe.

C'est celui de la plupart des grandes espèces qui, dans les plus parfaites, comprend 4 parties bien distinctes : *le chapeau, le stipe, l'anneau, et la volve*.

### Chapeau.

C'est la partie du champignon la plus apparente, souvent blanche mais très souvent aussi colorée de diverses teintes plus ou moins vives. Elle porte aussi fréquemment le nom d'hymenophore (c'est en effet lui qui porte l'hymenium). Le chapeau a souvent la forme d'un dôme surbaissé, d'une cloche ou d'un cône. Parfois il est dit *dimidié* parce qu'il est réduit à une moitié de cercle.

Le chapeau est dit *resupiné* lorsqu'il est retourné dessus dessous (espèces lignicoles). Il est dit *imbriqué* quand les champignons croissant en touffes serrées se soudent par les pieds. On a alors un champignon unique à chapeaux multiples; disposés les uns par dessus les autres et se recouvrant comme les tuiles d'un toit. *Polyporus*.

### Stipe.

Cet organe est aussi nommé *pédicule ou pied*; c'est une colonne

dont l'extrémité supérieure s'élargit pour former le chapeau. Il est facilement séparable du pied (*Amanita caesarea*, *Pratella campestris*), ou difficilement séparable (majorité des espèces). Dans le premier cas le stipe est dit *distinct*, *séparé* du chapeau; dans le second cas *continu*, *conné*, *confluent*.

Le stipe peut être *central*, c'est-à-dire fixé à un centre du chapeau, *latéral* s'attachant sur le bord du chapeau, *excentrique* s'il est situé entre le centre et le bord (1).

Le pied est le plus souvent cylindrique, il va parfois en s'atténuant de bas en haut ou de haut en bas. Parfois il est *bulbeux* ou renflé à sa base, *ventru*, plus gros en son milieu qu'à ses extrémités. Enfin il est tantôt *plein*, tantôt *fistuleux* ou creux.

Beaucoup de champignons ne possèdent pas de pied, ils sont dits sessiles.

#### Anneau.

Nommé aussi *bague*, *collier*, *collet*, *collerette* provient du *voile* qui, dans le premier âge du champignon, s'étend depuis le stipe jusqu'aux bords du chapeau de manière à couvrir toute la face inférieure de ce dernier.

Le voile peut être membraneux, consistant, ou mince et fragile.

Dans le second cas il se nomme *cortine*, *voile cortinaire*.

Tout champignon possédant un voile membraneux possède par là même un anneau ou il est censé en avoir un. Il est de toute nécessité pour la détermination des espèces de s'assurer si cet organe existe.

Il peut être *supérieur* quand il est situé au haut du stipe, *médian* s'il est placé au milieu, *inférieur* s'il est plus bas que le milieu.

Son bord libre peut être *marginé* ou épaissi et arrondi, *entier* ou sans découpures; *frangé* ou en forme de frange; *lacéré*, ou profondément déchiré. Il peut être fixe ou mobile (*Lepiota procera*).

Quand le stipe est sans anneau on dit qu'il est *nu*.

#### Lamelles.

Dans la famille des *Agaricinées*, la détermination du genre et

1. Remarquons ici que le stipe peut se montrer pour une même espèce tantôt central, tantôt excentrique. Mais ce ne sont là que des exceptions, aussi pour éviter des erreurs on fera porter son examen sur plusieurs échantillons, on s'assurera ainsi que son excentricité est purement accidentielle ou vraie.

de l'espèce repose en grande partie sur l'examen des lamelles.

Les lamelles peuvent être larges, étroites, épaisses ou minces, les faces planes, ondulées, crispées, veinées, cotelées; l'arête rectiligne, linéaire, concave, arquée, convexe, ventrue; aiguë, obtuse, crispée, canaliculée; entière, crénelée, dentelée, irrégulièrement corrodée, frangée, perlée, floconneuse.

La base peut être intimement soudée avec le chapeau (contiguë) ou distincte du chapeau et facilement séparable.

Les extrémités, soit en avant, soit en arrière, arrondies, élargies, amincies, atténuées.

Quand l'extrémité antérieure est élargie et tournée vers le bas, les lamelles sont dites *ascendantes* au point de vue de leurs rapports réciproques. Les lamelles sont :

De longueur égale; — de longueur inégale, — moitié moins longues que les voisines (dimidiées).

Rapprochées les unes des autres, serrées.

Ecartées les unes des autres, distantes.

Simple, distinctes; fourchues, ramifiées, réunies par des veines ou par un réseau; anastomosées.

Réunies à leurs extrémités postérieures par une sorte de collier membraneux.

Au point de vue de leurs rapports avec le stipe, les lamelles sont dites :

1° *Ecartées du stipe*, quand leur extrémité postérieure est située à une distance notable du stipe.

2° *Libres*, quand leur extrémité postérieure, plus ou moins atténuée, arrive à peine au stipe.

3° *Sinuées*, quand leur extrémité postérieure arrondie arrive à peine au stipe, ce qui produit un petit enfoncement, un petit golfe entre le stipe et les lamelles.

4° *Adnées*, quand leur extrémité postérieure adhère simplement au stipe par une surface plus ou moins large.

5° *Emarginées*, quand leur arête est creusée, entaillée près de leur insertion avec le stipe.

6° *Decurrentes*, quand leur extrémité postérieure se prolonge notablement, en suivant la forme du stipe, et en s'atténuant peu à peu d'une façon régulière.

#### Réceptacle angiocarpe.

Si nous prenons le réceptacle angiocarpe le plus simple il consiste en une petite cupule dans laquelle naît l'hymenium.



Cette cupule est parfois close, parfois ouverte au sommet par un trou arrondi (ostiole) ou encore par une fente plus ou moins étendue. On la nomme vulgairement *conceptacle*, *perithèce*, *péridiole* ou *péridie*.

Les trois premières dénominations s'emploient pour des réceptacles très petits ne présentant qu'une seule cavité. Le mot *péridie* s'applique aux réceptacles composés, comprenant plusieurs cavités distinctes.

Il est fréquent de voir plusieurs perithèces ou des péridioles se grouper sur un même support.

Lorsque cette espèce de réceptacle commun ne forme qu'un *substratum* dans lequel est immergée la base des réceptacles particuliers, on l'appelle *stroma*; si il s'étend autour des conceptacles de manière à les entourer complètement, on a le *péridie* proprement dit et la masse intérieure porte le nom de *glèbe* (gleba). La *glèbe* se comporte de différentes manières suivant les espèces, elle pourrit chez la plupart des cryptogames

Le lycoperdon se transforme en une poussière très fine. Cette poussière mélangée de filaments de débris de cellules et de spores reçoit le nom de *capillitium*.

### Volve.

La volve est assez rare, plus rare que l'anneau; c'est surtout dans le groupe des Amanites qu'il convient de l'étudier.

C'est une membrane qui enveloppait le réceptacle tout entier et à laquelle on a, pour cette raison, donné le nom de *voile universel*.

La croissance rapide du stipe et du chapeau contraint le voile universel à se déchirer et celui-ci constitue alors, à la base du stipe, une espèce de bourse, qui porte le nom de *volva* ou *volve*. La volve peut être complète si le voile universel reste intégralement autour de la base du stipe, la volve est incomplète si des lambeaux plus ou moins larges se détachent et sont entraînés par le chapeau. Les parties ainsi disloquées adhèrent à la cuticule du chapeau sous forme de *verrues*, *pustules*, *grains*, *pellicules*, etc. (*Amanita muscaria*, *Amanita mappa*, *Amanita pantherina*).

La volve est *persistante* ou *fugace* selon sa durée, *ample* quand elle est en forme de bourse à bords élargis; *vaginée* quand elle est longue et presque adhérente au pied (du fourreau) *ochrée*



quand elle s'applique comme une guêtre sur le stipe du champignon.

*Remarque très importante.* — Les champignons possédant une volve doivent être recueillis avec beaucoup de soin si on veut conserver intact cet organe fragile *indispensable pour la détermination*.

Pour cela on soulève avec soin la terre dans laquelle s'enveloppe la stipe, puis on dégage soigneusement ce dernier. Il faut éviter à tout prix que la volve reste dans le sol car on manquerait d'un élément capital pour la détermination de l'espèce.

#### Surface hymeniale.

La situation de la surface que reçoit l'*hymenium* et l'aspect que prend cette surface sert à différencier les réceptacles gymnocarpes. Lorsqu'il existe un chapeau c'est lui qui porte l'hymenium, mais la fructification ne le recouvre point entièrement : elle se trouve tantôt sur la face inférieure (Agarics, Polypodes) tantôt sur la face supérieure (Morilles; Pezizes, Helvelles). De plus la surface hymeniale diffère suivant les familles. Elle consiste en lames minces rayonnantes ou concentriques (Agaricinées), en tubes minces et parallèles (Polyporées), en pointes (Hydnacées). Elle est alvéolée (Morille), chez les Helvelles et les Pezizes, elle est lisse, chez les Clavaires elle occupe toute la surface libre du réceptacle.

Quelques champignons (*Cycloderma*) présentent à l'intérieur du péridiole une sorte de pied avorté qui reste entièrement caché au sein de la glèbe à laquelle il sert de support. C'est ce que l'on appelle une *columelle*.

*Réceptacle des Myxomycètes.* — Les Myxomycètes forment parmi les angiospermes une famille un peu à part. Lorsque le moment de fructification est annoncé le plasmode déploie une activité inaccoutumée, il se déplace rapidement, grimpe sur les objets voisins et peut ainsi s'éloigner assez loin de son lieu d'origine. Puis il devient fixe, se ramasse sur la surface de son support, se concrète, s'entoure d'une enveloppe et devient ainsi une sorte de conceptacle dans lequel sont contenues les spores avec l'organe de dissémination le *capillitium*. Ce réceptacle prend des formes différentes suivant les espèces. Il est tantôt simple, tantôt composé. Dans le premier cas il consiste en une membrane mince recouverte d'un voile furfuracé.

Exemple : *Didymium liquidum*. Dans le second cas, il comprend plusieurs conceptacles soudés les uns aux autres et renfermés dans une croute épaisse et vernissée faisant office de *péridie*. Parfois aussi les conceptacles se trouvent espacés mais alors ils sont unis par du mycelium interposé comme dans les genres *Trichia*, *Physarium*.

### Réceptacle filamenteux.

Le type de ce réceptacle est commun aux moisissures en général, c'est ainsi que le *Mucor Mucedo* espèce banale si fréquente sur le crottin de cheval ou sur le pain altéré n'a pour réceptacle qu'une simple cellule tubuleuse, allongée, de direction verticale, portant à son extrémité supérieure une petite sphère dans laquelle prennent naissance les spores.

L'*Haplotrichum roseum* a le même support que le *Mucor Mucedo*, mais son réceptacle est un peu plus compliqué en organisation car il est formé de plusieurs cellules soudées bout à bout et la sphère qui le termine n'est pas une capsule renfermant des spores, c'est un amas de spores nues disposées en capitule.

Dans les *Aspergillus* le réceptacle, après s'être renflé en massue à son sommet, se divise en un grand nombre de rameaux qui s'étalent comme les poils d'un pinceau (*phialides*). Chacune de ces *phialides* supporte une suite de spores arrondies disposées en chaînettes.

Chez les *Sterigmatocystis* légère complication. Les *phialides* portent de petites proéminences qui portent des spores disposées en chaînettes comme dans le *Penicillium*.

### Hyménium.

On entend par hyménium l'ensemble des cellules productrices de spores, lorsque ces cellules sont groupées les unes à côté des autres de façon à couvrir une surface déterminée.

Les spores sont produites chez les champignons supérieurs par deux espèces de cellules : les *basides* et les *asques*.

La *baside* est le plus généralement ovale, amincie à sa base d'assez grande dimension reposant sur les cellules du réceptacle. Elle est caractérisée par des tubes minces, effilés à leur extrémité, qui la surmontent, ces tubes portent le nom de *stérigmates*, *spicules* souvent au nombre de quatre et se terminant par une

spore. La spore tombe à la maturité mais le stérigmate reste en place.

L'asque est constitué par une grande cellule bourré de protoplasma au sein duquel se forment des spores libres le plus souvent au nombre de *huit*. Tantôt il est cylindrique, plus long que large, tantôt ovoïde et même globuleux. Souvent l'asque porte aussi le nom de *thèque*.

Dans les réceptacles filamenteux *la baside et l'asque* se trouvent très simplifiés, la première est parfois réduite à l'état de simple stérigmate et porte le nom de *sporophore*.

L'asque devient dans les mêmes conditions un *sporange*.

Il y aura donc deux sortes d'hymenium proprement dit :

1° *Hymenium basidiosporé*; 2° *Hymenium ascosporé*.

Et en se fondant sur ces faits on a pu diviser les champignons en BASIDIOMYCÈTES et ASCOMYCÈTES.

On remarque aussi à côté entre les basides des cellules plus allongées stériles, que l'on nomme *cystides*.

Chez les Ascomycètes on trouve des cellules semblables auxquelles on donne le nom de *paraphyses*.

*Observation de l'hymenium.* — Il est indispensable pour le mycologue de savoir examiner un hymenium de façon à connaître sa structure interne, de différencier par exemple les basides et les asques.

D'une façon générale on examine l'organe à étudier d'abord dans son ensemble au moyen d'une loupe assez forte. Puis on y pratique dans toutes les directions des sections assez minces (le plus mince possible) avec un rasoir bien tranchant. Ces sections sont placées très soigneusement sur une lame de verre bien propre et examinées au microscope avec un grossissement de 200 à 300 diamètres.

Prenons un exemple : S'agit-il par exemple de reconnaître la forme de l'hymenium d'une *Pezize* ou d'une *Morille* (Pezize composée). On détachera minutieusement une petite parcelle de la pellicule qui recouvre la coupe (Pezize) ou l'une des alvéoles du chapeau, on la déposera sur une lame de verre et on l'examinera au microscope.

Il est plus commode de disposer cette pellicule dans une goutte d'eau, de la disséquer avec une petite aiguille en évitant de la dilacérer par trop, de recouvrir cette pellicule d'une lamelle et d'examiner au microscope.

On verra alors très nettement les asques et les spores à la con-

dition bien entendu que le champignon soit parvenu à la période de la fructification (1).

Nous jugeons le microscope comme un instrument indispensable pour qui veut faire de la mycologie.

On pourrait avoir encore un meilleur résultat en pratiquant la coloration de la pellicule au moyen du bleu lactique ou du colorant triple par exemple. C'est un procédé de choix que nous indiquons page 100.

Si l'on désire reconnaître la position et la nature de l'hymenium on peut y parvenir de la façon suivante :

On dépose sur une feuille de papier le champignon en ayant soin de tourner en bas la surface que l'on suppose être recouverte par l'hymenium. Si cet organe s'y trouve, il en tombera des spores qui, en s'accumulant sur le papier, y forment une couche de fine poussière parfaitement visible au bout de quelques heures.

Mais il faut pour cela que le champignon ne soit ni trop vieux, ni trop jeune. On aura soin également de ne récolter le champignon que par un temps sec.

Le plus souvent, l'hymenium se révèle par une configuration spéciale. Nous savons qu'il recouvre des lames rayonnantes ou excentriques chez les *Agarics*, des tubes parallèles chez les *Bolets*, des Aiguillons chez les *Hydnes*, etc., etc.

### SPORES

Les spores consistent en une cellule dont la cavité ordinairement simple, est quelquefois divisée en plusieurs compartiments par des cloisons.

Leurs dimensions varient beaucoup. Jamais cependant elles n'atteignent une taille suffisante pour qu'on puisse les distinguer une à une à l'œil nu. Ici plus que jamais le microscope est indispensable. Les spores peuvent revêtir toutes les formes, rondes, ovales, elliptiques, en fuseau, en croissants, en spirale. Dans chaque spore il faut considérer l'enveloppe cellulaire et les substances qu'elles renferment. Le contenu de la spore est généralement celui des cellules ordinaires, elle est remplie de protoplasma et parfois on y peut voir quelques guttules hui-

---

(1) Lorsqu'on devra faire de très fines préparations il sera indispensable d'avoir recours à la méthode des coupes.

leuses qui furent appelées autrefois sporidioles quand on ne connaissait pas leur nature.

L'enveloppe se compose de deux membranes superposées : l'*épispore* à l'extérieur et l'*endospore* à l'intérieur, souvent l'épispore est lisse, nue, parfois appendiculée. C'est ce qui fait que les spores sont verruqueuses chez les *Russules*, anguleuses chez les *Entoloma*, réticulées dans la *Truffe*. Celles du *Dinamosporium* et du *Pestalozzia* portent à leurs extrémités des filaments qui leur donnent des aspects particuliers ressemblant avec certains animalcules.

L'enveloppe de la spore est tantôt blanche, tantôt noire, parfois jaune, rouge, ferrugineuse, brune, violacée, etc.

Si elle est transparente et que les liquides contenus dans son intérieur soient eux-mêmes colorés, il y aura nécessairement superposition des deux teintes et modification de la couleur. C'est ainsi que les spores de plusieurs *Russules* paraissent jaunes quand on les regarde par transparence bien que leur enveloppe soit blanche et paraisse telle quand on la regarde par réflexion, avec une lumière très oblique.

Il faut toujours noter avec beaucoup de soin la coloration des spores, elle fournit une excellente base à la classification.

#### Comment connaître la couleur des spores ?

Pour connaître la couleur des spores on peut recourir au microscope ou bien au procédé suivant :

1° En appliquant sur l'hymenium d'un champignon parvenu à maturité une lame de verre humide, on est presque toujours sûr d'enlever un bon nombre de spores que l'on examine au microscope par transparence et par réflexion.

2° Le second procédé consiste à déposer le champignon sur une feuille de papier de façon que l'hymenium soit tourné en bas. On peut employer du papier filtre blanc. On se procure ainsi une assez grande quantité de spores, et la couleur de la poussière résultant de leur accumulation est parfaitement visible. On conseille aussi de déposer le champignon moitié sur papier blanc, moitié sur papier noir. Si les spores sont blanches elles se détacheront mieux sur papier noir. Il est également intéressant de faire agir sur la spore divers réactifs chimiques, *a*) hypochlorite sur les spores colorées ; *b*) liquide de Schweitzer sur toutes les spores ; *c*) eau iodée ; *d*) triacide d'Ehrlich ; *e*) les acides minéraux, acide sulfurique, azotique, *f*) les réactifs de la

membrane chloriodure de zinc, réactifs de Mangin; g) les alcalis potasse, soude, ammoniacque.

*Constitution d'une sporothèque.* — Il est fort difficile d'effectuer des préparations microscopiques durables de spores. Mieux vaut à notre avis lorsqu'on désire conserver telle ou telle spore pour l'étude, les recueillir comme nous l'avons dit page 271 et de les maintenir ainsi en petit paquet fait de papier buvard. Pour un examen microscopique on en prélèvera une faible parcelle que l'on montera dans la glycérine ou dans tout autre liquide favorable.

La couleur de l'hymenium peut aussi faire juger de celle des spores, mais moins sûrement.

Il existe dans plusieurs champignons des organes reproducteurs assez différents des spores ordinaires.

Nous signalerons en particulier les stylospores, les spermaties, les zoospores et les oospores.

*OBSERVATION. Stylospores. Pycnides.* — Sur beaucoup d'espèces se rencontrent des corps arrondis, ovoïdes ou turbinés qui ont plus d'une fois été pris pour des plantes parasites et qui ne sont en réalité que des conceptacles. TULASNE a donné à ces organes le nom de *pycnides* et aux spores qui s'y forment celui de *stylospores* (*Cenangium frangulæ*).

*Spermaties. Spermogonies.* — Les spermaties sont des corpuscules linéaires très fins, de dimensions moindres que les spores et qui ont un mouvement oscillatoire ou de trépidation quand ils sont placés dans un liquide; ils naissent par voie ascosporee sur des filaments situés le plus souvent dans un conceptacle spécial nommé *spermogonie* (*Triblidium quercinum*). Dans cette dernière plante c'est un conceptacle dont l'intérieur est rempli par une multitude de filaments simples ou rameux, articulés et dont les articles se détachent pour former des spermaties.

*Zoospores, zygozspores et oospores.* — Le *Phytophthora infestans* (maladie de la pomme de terre) possède des sporanges ovoïdes qui continuent à grossir quand ils rencontrent de l'humidité. A maturité le sporange se déchire au sommet et met en liberté des spores qui, d'abord immobiles, s'agitent bientôt au moyen de cils vibratils dont elles sont munies à leurs extrémités ordinairement. On nomme ces spores des *zoospores*. Le sporange prend le nom de *zoosporange*.



Les *zygospores* sont fréquentes chez les Mucorinées (*M. Mucedo*, *Mucor racemosus*, *Sporodinia grandis*, etc...) Ce sont des spores produites par voie de fécondation : Voici ce qu'il se produit : deux rameaux voisins se rapprochent et se joignent. Dans chaque rameau il se produit une cloison qui isole ainsi deux cellules appelées *gamètes*. La membrane de séparation entre les deux rameaux disparaît, il y a échange de protoplasme entre les deux gamètes et fécondation. A ce moment la *zygospore* s'entoure d'une épaisse membrane parfois même ornée d'aspérités assez développées.

Cette *zygospore* peut germer lorsqu'elle trouve un milieu convenable.

#### Etude cytologique des champignons.

Les matériaux destinés à l'étude cytologique des champignons doivent être fixés le plus tôt possible après la récolte; parfois même il est nécessaire de procéder à la fixation sur place; pour les *Coprins* par exemple, où le développement des basides est à la fois simultané et très rapide; pour les Urédinées, en particulier le *Puccinia Liliacearum*, chez lesquelles la flétrissure de la plante hôte arrête instantanément le développement (MAIRE).

Pour effectuer ces sortes de manipulations MAIRE (1) recommande l'usage d'une cartouchière spéciale, sorte de giberne portée sur une ceinture et contenant des flacons cylindriques bouchés à l'émeri, numérotés au silicate et encre de chine sur le corps et sur le bouchon, avec à chaque extrémité une fiole de plus grande dimension également bouchée à l'émeri et pouvant contenir une quantité de liquide fixateur suffisante pour remplir à demi la moitié des flacons cylindriques.

Les deux liquides qui semblent donner les meilleurs résultats sont le Flemming et le picroformol.

Un certain nombre d'espèces charnues continuant à former des basides et des spores après leur récolte peuvent être fixées le lendemain.

#### Liquides fixateurs.

*Liquides osmiques* : Ces liquides sont, en général, d'excellents

---

1. MAIRE. Recherches cytologiques et taxonomiques sur les Basidiomycètes. *Bull. soc. Mycol. France* 1902.

fixateurs mais noircissent les espèces qui contiennent des substances grasses.

Le mélange chromo-acéto osmique fort de Flemming est un des fixateurs de choix. C'est avec ce liquide que MAIRE a exécuté la plupart de ses travaux cytologiques. Les fragments de champignons peuvent y séjourner sans danger plusieurs jours. On lave ensuite quelques heures à l'eau courante, ou un jour ou deux en renouvelant l'eau plusieurs fois par jour et en plaçant le flacon où se fait le lavage sur l'étuve à paraffine.

Le mélange platino-acéto-osmique de HEIMANN est également recommandable.

Les vapeurs osmiques sont souvent employées avec avantage pour fixer des spores en germination ou de jeunes filaments mycéliens cultivés en cellule.

*Liquides non osmiques* : Ces liquides s'emploient dans le cas où il y a abondance de matières grasses; le meilleur de ces réactifs est le picroformol de BOUIN dont MAIRE a modifié légèrement la formule. Il le prépare en saturant d'acide picrique un mélange de :

Formol commercial à 40 p. 100 de Methanal. . . . .	30
Eau. . . . .	20
Acide acétique . . . . .	5

Le chlorure mercurique ou sublimé corrosif est la base de nombreux liquides fixateurs. MAIRE a beaucoup employé pour les Uredinées, le liquide de CARNOY (alcool absolu, 1 vol., chloroforme, 1 vol., acide acétique glacial, 1 vol., sublimé à saturation). Ce liquide est très pénétrant mais il a un inconvénient c'est d'amener souvent la formation dans les tissus de cristallisations dont on ne peut se débarrasser, même par l'emploi de l'iode.

La solution alcoolique saturée de chlorure mercurique est également fort pénétrante, mais fixe moins bien d'après MAIRE.

La solution aqueuse saturée, pure ou acidulée (liquide de KAYSER) donne d'excellents résultats dans bien des cas.

La liqueur de Gilson est recommandée par MAIRE parmi les fixateurs au sublimé pour les usages ordinaires. Il en a même modifié la formule en la saturant de sublimé.

D'une façon générale les fixateurs à base de sublimé sont très aléatoires. Ils donnent dans certains cas des fixations remar-

quables, alors que dans d'autres on échoue totalement. On doit employer toujours les lavages à l'alcool iodé.

Le liquide de Zenker (bichromate de potassium 2; sulfate de sodium, 1; sublimé, 5; acide acétique, 5; eau, 100) donne d'ordinaire une fixation délicate, car les colorations ultérieures sont difficiles.

Le formol (solution à 40 p. 100 de méthanal dans l'eau) est très souvent employé dilué à 40 p. 100 pour conserver des échantillons macroscopiques des champignons.

L'acétate d'uranyle en solution saturée, donne parfois de bons résultats : il est pénétrant, fixe bien les *mitoses*, mais a l'inconvénient de précipiter une quantité innombrable de granules au sein du protoplasma (MAIRE).

L'alcool absolu rend parfois de grands services, mais malheureusement fixe souvent d'une façon imparfaite; on obtient de meilleurs résultats en le saturant d'acide salicylique.

#### Méthodes d'inclusion.

Le matériel fixé se conserve indéfiniment dans l'alcool à 90°. Pour y pratiquer des coupes, il est nécessaire de l'inclure soit dans la paraffine, soit dans la celloïdine. La plupart des mycologues et MAIRE en particulier se sont surtout servis de l'inclusion à la paraffine, qui permet des coupes d'une minceur extrême, ce qui est indispensable pour l'étude de l'hymenium. De plus, cette méthode conserve admirablement les structures cellulaires dans la majorité des cas, et a sur l'inclusion à la celloïdine l'avantage de la rapidité et de la facilité.

Le procédé recommandé par MAIRE est le suivant : On range en ligne sur un rayon quatre petits flacons à large goulot bouchés à l'émeri et remplis d'alcool absolu, et un peu plus loin quatre autres flacons à demi remplis d'essence de cèdre : puis dans la grande fosse de l'étuve de Naples, recouverte d'une lame de verre, deux rangées de quatre petites capsules de porcelaine contenant de la paraffine à la température de fusion. Quatre des flacons étiquetés contenant le matériel dans l'alcool à 95° sont amenés devant les flacons d'alcool absolu et l'on place dans ces derniers tout ou partie du dit matériel.

Au bout du temps nécessaire à la déshydratation, on retire l'un après l'autre les objets de l'alcool absolu, et on les place sur l'essence de cèdre, en ayant soin de transférer chaque fois le flacon étiqueté d'où ils proviennent devant le flacon d'essence

où en les met. Pendant la pénétration par l'essence de cèdre une nouvelle fournée de matériel peut passer à la déshydratation. Lorsque les objets sont tombés au fond de l'essence de cèdre et devenus bien transparents, on les transporte dans les capsules à paraffine de la première rangée en faisant suivre chaque objet respectivement de son flacon étiqueté. Une nouvelle fournée passe alors à la pénétration par l'essence de cèdre et une autre à la déshydratation. Au bout de quelques heures les objets passent dans la seconde rangée des capsules à paraffine et sont remplacés dans la première par ceux qui sortent de l'essence de cèdre, lesquels cèdent eux-mêmes leur place à ceux qui ont achevé leur déshydratation. Dans toutes ces étapes successives, les objets sont toujours accompagnés du flacon étiqueté qui les a contenus.

Enfin les objets bien pénétrés sont montés en blocs soit au moyen des barres de Lenckhart <sup>1</sup>, soit lorsqu'ils sont petits et d'une orientation difficile, en les plaçant dans une cavité creusée avec une aiguille chauffée sur un cube de paraffine.

On arrive ainsi à une production continue et relativement très rapide de blocs prêts à être coupés; malgré ses simplifications, cette méthode est d'une grande sûreté, elle nous a presque toujours donné des résultats identiques à ceux obtenus en employant les procédés décrits par les auteurs: passage graduel de l'alcool aux essences ou carbures, de ceux-ci à la paraffine, etc.)

Pour certains objets dont la pénétration est particulièrement difficile il peut être avantageux d'employer le xylol au lieu d'essence de cèdre; le passage graduel de l'alcool absolu à ce carbure n'a pas semblé préférable à MAYER pour le matériel ordinaire au passage direct, le premier n'a d'indication que dans le cas d'organismes très délicats, à filaments séparés les uns des autres.

Le bloc de paraffine sorti du moule, on taille un petit cube de manière à enlever la paraffine en excès sur cinq des faces de

---

(1) Le fragment inclus dans la paraffine est ensuite coulé dans un moule constitué, soit par une petite boîte de papier, soit par un petit récipient de verre ou de métal. Mais on trouvera plus commode encore de se servir de deux petites équerres métalliques que l'on place sur une lame de verre et que l'on peut rapprocher ou éloigner à volonté de manière à limiter une petite boîte de volume variable. Quelque soit le moule choisi on l'enduit au préalable d'huile ou de glycérine et on y coule la paraffine avec le fragment qu'elle contient. Avec une aiguille à microscope on oriente alors l'objet dans la position où on désire le couper et on laisse la paraffine se solidifier. Quand la paraffine est suffisamment durcie, le petit bloc de paraffine peut être retiré du moule.

l'objet. La sixième est fondue avec un objet métallique, chauffée et fixée sur le porte-objet du microtome. On consolide la base du petit cube avec un excès de paraffine fondue que l'on dispose alentour et on immerge le tout dans l'eau jusqu'à solidification complète de la paraffine. On sort ensuite le porte-objet de l'eau et avec un rasoir on taille encore le petit cube de paraffine de manière à ce que ses quatre faces soient parfaitement parallèles. On visse le porte-objet sur le microtome et on amène le petit cube de paraffine au niveau du rasoir, de telle sorte que l'une des faces soit bien parallèle au tranchant de ce dernier. Il ne reste plus alors qu'à manier la vis micrométrique et le rasoir ou l'appareil automatique pour faire les coupes.

*Déplissement et collage des coupes* : Les coupes ainsi obtenues sont toujours plissées, ils nous faut les déplisser et les coller ensuite sur lames avant de les colorer. A cet effet on verse un peu d'eau dans le couvercle d'une boîte de PÉTRI et on place celui-ci sur une platine chauffante afin de faire légèrement tiédir l'eau. Il est avantageux de se servir de la platine chauffante de RADAT. Dans cet appareil la chaleur empruntée à un bec de Bunsen est répartie par conductibilité dans une longue lame métallique, dont la disposition annulaire assure à l'opérateur, sous un volume peu encombrant, une échelle ininterrompue de température différente. Elle peut remplacer au besoin l'étuve et le bain-marie.

Lorsque l'eau est tiède on y place un fragment de ruban de coupe qui s'étale et se déplisse presque instantanément. On recueille alors le ruban à la surface du bain sur un morceau de papier de soie ou de papier à cigarettes que l'on introduit au-dessous; on sort de l'eau le papier et les coupes qui y adhèrent et on décalque ces dernières sur une lame de verre préalablement enduite d'une couche très mince d'albumine glycinée.

Une fois les coupes décalquées sur la lame on les sèche au papier de soie, puis quand il ne reste plus la moindre trace d'eau, on chauffe légèrement, de manière à coaguler l'albumine, qui colle les coupes. Il faut éviter de faire fondre la paraffine, dont on se débarrasse plus tard au moment de faire les colorations.

On peut encore employer le procédé suivant pour coller les coupes :

Après avoir étalé sur la flamme une mince couche d'albumine on étale à la surface une faible couche d'eau sur laquelle on place un fragment du ruban de coupes. On chauffe légèrement en

tenant la lame à une certaine distance d'une flamme. Dès que l'eau vient à tiédir, les coupes se déplissent presque instantanément. On cesse de chauffer, car il faut éviter absolument la fusion de la paraffine; on verse l'excès d'eau et on fait sécher la lame, soit à l'air libre, soit à l'étuve.

L'albumine glycérinée s'obtient de la façon suivante : on bat légèrement deux ou trois blancs d'œuf; on laisse déposer, on ajoute un petit morceau de camphre et l'on filtre. L'albumine filtre très lentement; cependant au bout de douze heures on en obtient environ 2 cm<sup>3</sup>. On y ajoute un volume égal de glycérine pure, un petit morceau de camphre et on conserve dans un flacon bien bouché. On agite ensuite pour mélanger. On emploie l'albumine glycérinée de la manière suivante : à l'extrémité d'une lame on dépose une goutte du mélange et avec une baguette de verre bien propre on l'étale en couche aussi mince que possible; au besoin on essuie la lame avec la paume de la main. On peut se servir également d'un pinceau fin pour étendre l'albumine.

#### Méthodes de coloration.

Les coupes à la paraffine faites avec le microtome MINOT à des épaisseurs de 3 à 9  $\mu$  sont collées sur lame soit à l'eau distillée, soit le plus souvent à l'aide d'une solution albuminée (glycérine et blanc d'œuf à volumes égaux, thymol q. s.). Pour cela on met dans un verre de montre plein d'eau, de 3 à 6 gouttes (ou plus, cela dépend du matériel) de la solution albuminée, on étale une couche de ce liquide sur une lame de verre avec un pinceau et on y fait flotter des fragments du ruban de coupes qu'on étale et déplisse en chauffant sur la platine de l'étuve de Naples. On place ensuite la lame sur un égouttoir et on l'y laisse sécher environ 1/2 heure puis on la place 5 minutes sur la platine ou dans le tiroir de l'étuve. Ces lames sont numérotées et étiquetées avec un mélange d'encre de Chine et de silicate de potassium. Les coupes ainsi collées sont privées de leur paraffine dans le toluol et après enlèvement de ce dernier par l'alcool absolu sont prêtes pour la coloration.

Rappelons-nous que le mode de fixation joue un très grand rôle dans le choix d'une méthode de coloration. La fuchsine, la safranine, etc., réussissent bien généralement après les liquides chromiques, l'hématoxyline et l'alizarine, le bleu de toluidine et quelques couleurs d'aniline voisines après les liquides picriques ou mercuriques.



*Colorations après Flemming.* Les coupes sont blanchies quand elles sont par trop noircies par l'acide osmique. Cette décoloration se fait très bien avec le peroxyde d'hydrogène employé selon la méthode d'OVERTON;

1. — *Méthodes rapides.* Ces méthodes sont utilisées avec avantage pour se rendre rapidement compte de la valeur d'un bloc.

1° *Diamant fuchsin-lichtgrün.* Ce procédé qui a été utilisé fort souvent par MAIRE donne souvent des résultats très satisfaisants. On colore deux à cinq minutes dans une solution de diamant fuchsin correspondant à la solution de fuchsine de Ziehl, soit :

Eau . . . . .	100 grammes
Phénol cristallisé . . . . .	5 —
Alcool . . . . .	10 —
Diamant fuchsin . . . . .	1 ou plus.

On lave à l'eau, puis on plonge dans une solution concentrée de lichtgrün (1). F. S dans l'alcool à 95°, jusqu'à ce que la décoloration soit suffisante, ce dont l'appréciation demande une certaine habitude. On lave ensuite à l'alcool, au toluol, au xylol et on monte au baume.

2° *Diamant fuchsin bleu de toluidine :* Colorer d'abord dans la solution de diamant fuchsin, puis regresser à l'alcool chlorhydrique, passer une minute ou deux au bleu de toluidine, laver rapidement à l'alcool absolu, monter au baume.

3° *Diamant fuchsin nigrosine :* Procéder comme dans la méthode précédente, mais laisser agir la nigrosine au moins 1/4 d'heure.

• 4° *Diamant fuchsin violet de méthyle orange :* Modification rapide du procédé Flemming, auquel il ne le cède pas comme beauté des résultats.

Colorer cinq minutes dans le diamant fuchsin, regresser à l'alcool chlorhydrique, laver, colorer 1/4 d'heure à 1/2 heure dans le violet : laver à la solution aqueuse saturée d'orange, qu'on laisse agir 1 à 3 minutes, passer aux alcools et à l'essence de giroflés, enlever celles-ci soigneusement avec du xylol et monter au baume.

---

(1) Le lichtgrün est plus soluble dans l'eau que dans l'alcool, propriété dont il faut bien tenir compte lorsqu'on l'emploie; il ne faut laver à l'eau après emploi de ce colorant que si l'on désire en éliminer un excès, cas assez rare.

5° *Diamant fuchsin, violet de méthyle lichtgrün*: Ne diffère de la méthode précédente que par l'emploi d'une solution aqueuse saturée de lichtgrün au lieu d'orange, et donne d'aussi bons résultats.

II. — *Méthodes lentes*. Ces méthodes s'appliquent seulement aux objets que l'examen rapide a montré pouvoir donner des résultats intéressants.

1° *Hématoxyline ferrique* (HEIDENHAIN). — Mordancer 1 à 3 heures dans une solution à 1 p. 100 d'alun ferrico-ammoniaque, colorer 12 à 24 heures dans une solution aqueuse d'hématoxyline à 2 p. 100, régresser dans le mordant. On obtient de très bonnes colorations doubles en employant ensuite la saürefuchsin, le Bordeaux et surtout le lichtgrün.

2° *Alizarine chromique* (RAWITZ). — Mordancer 24 heures dans une solution chromique (Chrombeize G A I de Grübler ou vieille solution d'acide chromique à 1 p. 100 brunie), colorer 24 heures avec une émulsion d'alizarine dans l'eau additionnée d'un peu d'acétate de calcium dans un thermostal à 40°. Laisser une heure dans l'alcool fort.

4° *Bleu Victoria, saürefuchsin*. — Mordancer dans la teinture d'iode, colorer 24 heures dans une solution alcoolique de bleu Victoria, puis 1/4 d'heure ou plus dans une solution aqueuse de saürefuchsin: passer aux alcools et à l'essence de girofles.

5° *Safranine, violet de gentiane, orange* (FLEMMING). — Mordancer au Chrombeize G A I, colorer de 2 à 24 heures dans la safranine anilinée, régresser à l'alcool chlorhydrique, colorer 1/2 heure à 1 heure dans le violet de gentiane (ou de méthyle), 1 à 3 minutes dans l'orange, passer aux alcools et à l'essence de girofles.

6° *Safranine lichtgrün* (BENDA). — Coloration à la safranine comme dans la méthode précédente, régression avec la solution alcoolique de lichtgrün.

B. *Coloration après picroformol*. — Les coupes doivent être laissées dans l'alcool assez longtemps pour que l'acide pierique en soit totalement éliminé.

### I. Méthodes rapides.

1° *Hématoxyline alunée et saürefuchsin*. — Colorer 1/4 d'heure par l'hémalun de Mayer ou mieux par l'Hématoxyline acide

d'Ehrlich, laver à l'eau, puis passer dans une solution aqueuse saturée d'acide picrique.

2° *Thionine*. — Colorer 1/4 d'heure dans la thionine, régresser à l'alcool et essence de girofles.

3° *Bleu de toluidine saürefuchsine*. — Mordancer à la teinture d'iode 1/4 d'heure, colorer cinq minutes au bleu; passer à la saürefuchsin la solution picrique.

## II. Méthodes lentes.

1° *Hématoxyline ferrique* (voir ci-dessus).

2° *Alizarine chromique* (comme ci-dessus, mais le mordantage et la coloration sont moitié moins longs).

3° *Safranine, violet de méthyle, orange* (comme ci-dessus, mais le mordantage chromique, facultatif après Flemming, est obligatoire après picroformol).

4° *Carmin ferrique*. Colorer plusieurs heures au carmalun de Mayer, laver et virer dans une solution à 1 p. 100 de citrate de fer ammoniacal, jusqu'à teinte grise.

## Montage des coupes.

MAIRE monte les coupes à la paraffine dans une solution de baume du Canada 1 p. et de Dammar 3 p. dans le xylol. Quant aux préparations directes de petites espèces ou de filaments isolés, il est souvent difficile de les monter dans une résine sans les rétracter, on les place alors dans la glycérine étendue qu'on concentre à l'exsiccateur, puis on monte à la glycérine concentrée. Comme but pour ces préparations à la glycérine MAIRE indique le procédé suivant :

Pratiquement, une bonne solution de cire à cacheter dans l'alcool du gold-size, recouverts quand ils sont de mastic de Bell, donnent les meilleurs résultats pour les préparations colorées.

Pour les préparations non colorées, un mélange de silicate de potassium et de Kaolin finement pulvérisé est très recommandable, il adhère même sans nettoyage parfait des bords de la lamelle. Après l'avoir appliqué, on n'a qu'à placer la préparation sur la platine de l'étuve de Naples pendant 5 minutes pour que la solidification soit complète. Il est bon ensuite de passer sur cette couche un vernis quelconque pour assurer l'imperméabilité du but.

Il y a aussi quelquefois avantage à monter les préparations dans la gélatine glycinée, dont l'indice de réfraction est intermédiaire entre ceux de la glycérine pure et du baume. Malheureusement la gélatine glycinée, pas plus que la glycérine, ne mérite confiance pour la conservation indéfinie des colorations.

### Coupes à la celloïdine.

Les objets durs, ramollis ou décalcifiés seront de préférence inclus dans la celloïdine.

Avec de petits fragments de celloïdine que l'on a eu soin de faire sécher à l'air, on fait 3 solutions : 1<sup>re</sup> une solution concentrée de celloïdine dans parties égales d'alcool absolu et d'éther sulfurique, jusqu'à consistance d'un sirop épais; 2<sup>e</sup> une solution formée d'une partie de cette solution mère, allongée d'un volume double d'éther alcoolique; 3<sup>e</sup> une solution formée d'une partie de la solution et diluée dans 2 parties d'éther alcoolique.

L'objet est préalablement déshydraté par l'alcool absolu, puis transporté dans une solution fluide de celloïdine qui doit avoir à peu près la consistance de la glycérine.

De cette solution on le porte pendant 24 heures dans la solution n<sup>o</sup> 3, puis 24 heures dans la solution n<sup>o</sup> 2 et enfin 48 heures dans la solution mère.

On verse alors le tout dans une boîte d'histologie très sèche que l'on a soin de fermer hermétiquement avec son couvercle enduit de vaseline, de façon à faire échapper les bulles d'air.

Quelques heures après on enlève le couvercle et on attend la formation d'une croûte de celloïdine. On porte alors la boîte dans du chloroforme pur ou simplement dans des vapeurs de chloroforme, et on attend le durcissement complet de la masse. Celle-ci se détache facilement. On la débite en un petit cube qu'on colle sur un cube de bois de dimension appropriée avec une goutte de la solution mère de celloïdine; on appuie et on étale tout autour ce qui déborde, après quoi on plonge le tout dans l'alcool à 70°. Une heure après on peut placer le morceau de bois dans la pince du microtome et commencer les coupes.

Ces coupes seront faites avec le rasoir tenu obliquement et largement mouillé d'alcool à 90°. Elles sont recueillies dans l'alcool à 70°, puis dans un mélange à parties égales d'alcool absolu et d'éther, que dissout la celloïdine, puis dans l'alcool absolu, on colore de préférence par l'hématoxyline et l'éosine. Guiart et Grimbert, on déshydrate par l'alcool absolu et on

éclaircit par le xylol. On étale la coupe sur une lame porte-objet et on examine après avoir déposé à sa surface une goutte de Baume et recouvert d'une lamelle.

## POISONS DES CHAMPIGNONS SUPÉRIEURS

### Extractions des poisons des champignons supérieurs.

Depuis quelques années grâce aux travaux de chimistes français et étrangers, la chimie des champignons a fait de grands progrès. Les champignons vénéneux ont surtout fait l'objet de recherches intéressantes qui ont jeté un jour nouveau sur les principes nocifs qu'ils contiennent. C'est à W. FORD que nous devons les recherches les plus complètes sur l'*Amanita phalloïdes*. Nous avons de notre côté étudié l'*Amanita verna* et l'*Amanita mappa* qui renferment d'ailleurs les mêmes principes trouvés par W. Ford.

L'*Amanita phalloïdes* contient surtout deux substances toxiques :

- 1° Une hémolysine détruite à + *Amanita-hémolysine*.
- 2° Une *toxine* non détruite à + 100°.

On comprend facilement que c'est l'*amanita toxine* seule qui intervient dans les empoisonnements par l'oronge ciguë verte, l'*Amanita hémolysine* étant détruite par la cuisson.

### Physiologie et chimie d'*Amanita phalloïdes*

#### *Comment se rendre compte des*

#### *Propriétés hémolytiques du suc d'Amanita phalloïdes.*

W. FORD a fait une très intéressante étude sur la physiologie et la chimie de l'*Amanita phalloïdes*. Pour se rendre compte des propriétés hémolytiques les champignons sont séchés à la lumière solaire ou encore dans une petite étuve préparée à cet effet. Les matériaux séchés sont conservés à l'obscurité, puis soigneusement pesés et pulvérisés dans un mortier. On ajoute ensuite une quantité d'eau déterminée, le tout est placé sur la glace pendant 48 heures. On exprime, et le jus obtenu possède une couleur brun foncé avec une odeur analogue à celle de la plante fraîche.

Trois extractions au moins sont effectuées pour chaque lot de champignons.

L'extrait est ensuite filtré à travers un papier filtre, puis à travers un filtre de Berkefeld.

Pour les réactions hémolytiques, une solution concentrée de chlorure de sodium est ajoutée en quantité suffisante pour élever à 1 p. 100 la quantité de sel contenu dans l'extrait. Cet extrait peut être conservé très longtemps, mais il est parfois nécessaire d'ajouter une petite quantité de thymol pour empêcher le développement des moisissures. Cet extrait possède le pouvoir hémolytique. Il dissout complètement les globules du sang de cobaye, lapin, poule, pigeon, chien, chèvre et homme. Cette réaction s'opère rapidement à  $+ 37^{\circ}$ , un peu plus lentement à une température moins élevée.

Les globules ne sont pas agglutinés et les globules préalablement lavés ou non, se dissolvent également bien.

La réaction s'opère avec une dilution considérable de l'extrait cru, comme on peut le voir par le tableau suivant :

#### Hémolyse des globules du cobaye non lavés.

Extrait préparé avec 8 grammes d'*Amanita* sèche et 100 cm<sup>3</sup> d'eau distillée. On laisse tremper 48 heures sur la glace, on exprime à la presse et on filtre. On ajoute une solution concentrée de chlorure de sodium de façon à obtenir une solution de 1 p. 100 de chlorure de sodium.

On opère sur une liqueur (isotonique) contenant en suspension 5 p. 100 de globules sanguins de cobaye et on lui ajoute les quantités ci-après de l'extrait préparé comme nous venons de le dire plus haut.

Avec 1 cm<sup>3</sup> de cet extrait, l'hémolyse est complète (1).

— 0, 1	—	—	—
— 0, 006	—	—	—
— 0, 004	—	—	presque complète
— 0, 002	—	—	partielle
— 0, 001	—	—	nulle

La dissolution complète des globules survient avec cet extrait d'*Amanita phalloïdes*, en quantité représentant 0, 006 cm<sup>3</sup>.

Le même extrait essayé sur les globules de lapin est un peu

(1) Il est indispensable d'effectuer ces essais en prenant des tubes témoins renfermant les mêmes produits (thymol et NaCl) dans l'extrait de champignon toxique. Voir à ce sujet les travaux de LAVIALLE. *Bull. Sc. pharmacol.* Année 1916



moins actif, une solution de 1 p. 100 soit 0,01 cm<sup>3</sup> étant nécessaire pour dissoudre complètement les globules.

Les globules sont dissous expérimentalement avec la même quantité d'extrait, qu'ils aient été lavés ou non.

Les globules des diverses espèces d'animaux présentent de grandes différences d'impressionnabilité à l'*A. phalloïdes*.

Aussi l'extrait précité qui dissout les globules de cobaye en solution de 0,006 cm<sup>3</sup> et ceux de lapin en solution de 0,01 cm<sup>3</sup> a une action beaucoup moindre sur ceux de poule, de chien et de pigeon qui sont respectivement dissous par des dilutions de 0,06 cm<sup>3</sup>, 0,08 cm<sup>3</sup> et 0,2 cm<sup>3</sup>.

Avec le sang de chien, les extraits d'*A. phalloïdes*, produisent un abondant précipité brun et floconneux, dont l'apparition marque la fin de l'hémolyse. Ce n'est point le sérum du sang de chien qui donne cette réaction, mais bien les globules lavés, exempts de sérum et tenus en suspension dans une très petite quantité d'eau.

L'hémolysine de l'*A. phalloïdes* a été nommé par W. Ford *Amanita hémolysine*.

**A quelle température les propriétés hémolytiques sont-elles détruites ?**

L'*Amanita hémolysine* commence à perdre ses propriétés hémolytiques à 60° c. et celles-ci ne sont complètement perdues qu'à la température de 65° maintenue pendant une demi-heure. Les hémolyses du sérum perdent leurs propriétés à 58° c., les hémolysines bactériennes en général à 56° c.

Les hémolysines contenus dans les sérums peuvent perdre par chauffage leurs propriétés hémolytiques, mais on peut la leur faire recouvrer par l'addition soit de lait, soit de sérum provenant de la même espèce ou d'une autre espèce d'animal. Dans le cas de l'*Amanita hémolysine*, l'addition de sérum ou de lait, ne peut en aucun cas faire rétablir l'action hémolytique de l'hémolysine de l'*A. phalloïdes*. En cela, elle ressemble aux hémolysines bactériennes.

**Pouvoir anti-hémolytique du lait.**

W. W. Ford a remarqué qu'en ajoutant au suc d'*A. phalloïdes* soit des sérums d'animaux immunisés, soit du lait, on pouvait empêcher son action hémolytique (*in vitro*) avec les globules sanguins du cobaye et du lapin.

La substance la plus active qu'il ait trouvée comme possédant cette action anti-hémolytique, est le lait cru ou bouilli. Aussi FORD considère-t-il le lait comme le meilleur antidote naturel de l'hémolysine.

Le suc d'*A. phalloïdes* ne manifeste sur eux aucune action dissolvante.

L'hémolysine préparée d'après cette méthode consiste en une poudre amorphe brune ou grise. 1000 grammes de champignons secs fournissent environ 6 grammes de produit. Autant qu'a pu le vérifier W. FORD, cette substance présente pour une matière calculée exempte de cendres, environ 50 p. 100 de carbone 32 d'oxygène, 6 d'hydrogène, 10 d'azote.

L'hémolysine de FORD paraît être un glucoside.

#### Extraction et propriété chimique de l'*Amanita*-toxine.

*Préparation de l'extraît alcoolique.* — 100 grammes de champignons ont été desséchés par évaporation de l'eau à l'aide de l'acide sulfurique, puis pulvérisés et la poudre triturée avec 300 cm<sup>3</sup> d'alcool éthylique à 65°. Le résidu est deux fois traité de la même manière et enfin mêlé à 100 cm<sup>3</sup> d'alcool de même concentration et abandonné au repos jusqu'au lendemain.

Le liquide provenant de ce dernier épuisement est réuni avec les trois premières fractions faisant ainsi un total de 1.000 cm<sup>3</sup>.

Après neutralisation par le carbonate de soude, l'extraît est évaporé en diminuant la pression atmosphérique, de manière à passer tout l'alcool et à ramener le volume restant à 150-200 cm<sup>3</sup>.

*Précipitation des matières étrangères par le nitrate d'argent.* — Après filtration, la solution est rendue légèrement alcaline par du carbonate de soude et traitée avec une solution à 15 p. 100 de nitrate d'argent. Il se forme un volumineux précipité qui ne renferme pas la substance toxique du champignon.

*Précipitation de matières étrangères par l'acétate basique de plomb.* — Le liquide filtré est débarrassé d'un léger excès d'argent par le chlorure de sodium. Le liquide, qui a alors une réaction neutre, est traité par une solution d'acétate basique de plomb préparée suivant la méthode ordinaire. Il se produit un précipité non toxique, qui est écarté par filtration. Le liquide filtré est traité par un excès d'une solution saturée de sulfate de soude afin de le débarrasser du plomb. On filtre.

*Précipitation de l'amanita toxine par l'acide phosphotungstique.* — Au liquide filtré, on ajoute un faible excès de l'acide phosphotungstique (solution à 10 p. 100 d'acide phosphotungstique dans de l'acide sulfurique à 5 p. 100).

*Décomposition de ce dernier précipité par la baryte.* — Le précipité obtenu est décomposé par la baryte et le liquide filtré, contenant un léger excès de baryte, est neutralisé par l'acide sulfurique. Le précipité de sulfate de baryte est écarté par filtration et le liquide filtré est reconnu contenir la substance toxique. Ce liquide administré à des lapins et des cobayes (en injections sous-cutanées) est fortement toxique.

1 centimètre cube contenant 0,004 du matériel tue les animaux en 24-48 heures avec les symptômes aigus et les lésions de l'*amanita-toxine*.

Le précipité provenant de la précipitation du liquide par l'acide phosphotungstique est décomposé par l'hydrate de baryte et la liqueur filtrée, contenant le résultat de cette décomposition, est de nouveau précipitée avec l'acide phosphotungstique, toutefois, en procédant par fractionnement, deux précipités fractionnés d'à peu près même volume sont successivement obtenus (1).

Ces deux précipités sont de nouveau décomposés avec l'hydrate de baryum et l'excès du métal est enlevé par l'acide sulfurique. Les deux solutions ainsi obtenues sont traitées par le nitrate d'argent pour se débarrasser encore de quelques impuretés.

Les liquides filtrés sont traités avec une solution de chlorure de sodium pour se débarrasser de l'excès d'argent et sont ensuite précipités par l'acide phosphotungstique.

Ces précipités ainsi obtenus sont décomposés par l'hydrate de baryte et l'excès de baryum est enlevé par l'acide sulfurique.

Postérieurement, en 1908, ABEL ET FORD ont ajouté quelques perfectionnements à cette méthode.

En essayant les deux solutions ainsi préparées on constate que

---

1. L'emploi de cette méthode repose sur ce fait, c'est que la toxine se précipite seulement vers la fin de la précipitation par l'acide phosphotungstique. Si donc on arrête la précipitation alors que la moitié seulement de l'acide phosphotungstique nécessaire pour la précipitation a été employée, on aura un dernier précipité qui ne contiendra que des matières étrangères et qu'on séparera par filtration, tandis que la seconde moitié de l'acide phosphotungstique déterminera un second précipité qui contiendra la toxine.

la plus grande partie de la substance toxique existe dans la solution qui provient de la seconde portion du précipité obtenu par l'acide phosphotungstique. Un centimètre cube de cette solution contenant 0,0042 gramme de matières organiques, administré en injection sous-cutanée à un lapin de 2 kilos suffit pour le tuer en 24 heures avec les lésions habituelles de l'empoisonnement par l'Amanite.

### PROPRIÉTÉS CHIMIQUES DE L'AMANITA-TOXINE

Cette substance est très soluble dans l'eau, moins dans l'alcool à 80°, très peu dans l'alcool absolu, même bouillant. Elle est insoluble dans l'éther, les huiles fixes ou essentielles, etc..., sa solution aqueuse est inactive au point de vue optique.

C'est un corps stable, qui peut supporter l'ébullition pendant quelque temps en solution dans l'eau et aussi dans l'alcool absolu, sans subir une grande diminution dans son pouvoir toxique ; il n'est que très lentement altéré par les acides à la température de la chambre, retenant sa toxicité pendant quelques jours quand il est ainsi traité.

Les acides bouillants toutefois détruisent rapidement le poison.

Il n'est réduit par la liqueur de Fehling, ni avant, ni après l'ébullition prolongée avec 5 à 10 p. 100 d'acide chlorhydrique. Si l'on excepte l'acide phosphotungstique, cette toxine ne réagit avec aucun des corps qui précipitent habituellement les alcaloïdes. Résultat négatif avec le *biuret* ou le réactif de MILLON. W. FORD et SCHLESINGER ont conclu que ce poison n'est ni un glucoside, ni un alcaloïde, ni un protéide dans le sens généralement adopté pour ces termes.

### Extraction et propriétés chimiques de l'Amanita-hémolysine.

*Extraction du suc.* — Les champignons parfaitement déséchés sont traités successivement par lot de 100 grammes. On passe au moulin cette quantité, on laisse tremper la poudre pendant 24 heures dans de l'eau distillée et on passe à travers une étoffe de coton. On filtre d'abord au papier, puis à travers un filtre de Berkefeld; on obtient ainsi un liquide limpide, à couleur brun foncé et de réaction légèrement acide.

*Précipitation des matières albuminoïdes par l'acétate d'uranium.* — Le suc est rendu alcalin par le bicarbonate de soude. On ajoute ensuite une solution d'acétate d'uranium et on agite

jusqu'à précipitation complète de la matière albumineuse (le liquide doit toujours être maintenu en réaction alcaline, ou l'acide libre altérerait l'hémolysine.)

On sépare le liquide du précipité albumineux par filtration à travers un filtre de Berkefeld.

*Précipitation de l'hémolysine par l'acétate basique de plomb.*

— Le liquide étant ainsi obtenu est précipité par l'acétate basique de plomb, en s'arrêtant au moment où le liquide filtré prend une couleur jaune paille. L'*Amanita-toxine* ne précipite pas par ce réactif.

Le précipité plombique est lavé par décantation. On le recueille dans un entonnoir de Büchner, et on le lave bien à l'eau.

*Décomposition du précipité plombique par le bicarbonate de soude.* — La soude déplace l'hémolysine qui est soluble dans l'eau, tandis que l'acide carbonique précipite le plomb à l'état de carbonate de plomb insoluble.

Quand la décomposition est complète, on ajoute de l'eau pour diluer l'alcali en excès. On sépare par filtration le précipité de carbonate de plomb et on neutralise par le liquide filtré. On peut comme le dit W. FORD conduire cette opération de façon à ne pas diminuer l'activité de l'hémolysine.

*Précipitation de l'hémolysine par l'acétate de cuivre.* — On précipite ensuite le liquide avec une solution d'acétate de cuivre à laquelle on ajoute une quantité d'ammoniaque juste suffisante pour produire une précipitation permanente d'oxyde de cuivre.

*Décomposition du précipité (hémolysine et cuivre) par le phosphate bisodique.* — Dans cette opération, on traite l'hémolysine précipitée avec une égale quantité d'une solution de phosphate bisodique et on filtre pour séparer le phosphate de cuivre insoluble. L'hémolysine unie au cuivre possède la propriété de rester en solution dans les liqueurs légèrement alcalines.

*Précipitation de l'hémolysine et du cuivre par la neutralisation du liquide.* — Quand la liqueur est rendue neutre, il se produit un précipité de cuivre et d'hémolysine.

Le composé de cuivre qui se précipite au point exact de la neutralisation du liquide, fournit de l'hémolysine très pure et très active (1 à 200.000 dans un liquide contenant en suspension 5 p. 100 de globules sanguins de lapin).

*Décomposition de ce précipité (cuivre et hémolysine) par le phosphate bisodique.* — Ce précipité est décomposé par l'acétate d'uranium. Le précipité de cuivre est soigneusement lavé et ensuite écrasé dans un mortier avec une solution de phosphate bisodique.

*Précipitation du cuivre par l'acétate d'uranium.* — Après s'être débarrassé du phosphate d'uranium, on neutralise le liquide filtré et on le soumet à la dialyse dans un sac de parchemin végétal durant un nombre suffisant de jours pour le priver, autant qu'on peut le faire, de tous les sels et de toutes les autres matières diffusibles. Le liquide est alors, en abaissant la pression atmosphérique (*in vacuo*), concentré et réduit à un faible volume et l'hémolysine est précipitée par l'addition d'alcool absolu.

W. FORD détermine aux diverses étapes de ses opérations successives, la puissance hémolytique de ses liqueurs en les faisant agir sur un liquide contenant en suspension 5 p. 100 de globules de lapin.

L'extrait débarrassé de matières albumineuses et filtré à travers le filtre de Berkefeld, à une puissance hémolytique de 1 à 30.000. Après la première précipitation par l'acétate basique de plomb, il atteint 1 à 50.000 qui peut croître en une seconde précipitation fractionnée jusqu'à 1 à 100.000. En précipitant de tels liquides par l'acétate de cuivre, l'activité hémolytique atteint de 1 à 225.000.

Si l'on emploie une plus faible quantité de champignons, de manière que les opérations puissent être menées plus rapidement, on peut atteindre une activité de 1 à 300.000. L'*Amanita hémolysine* est l'agent hémolytique organique le plus puissant que l'on connaisse.

#### Les agglutinines des champignons.

Nos connaissances sur les agglutinines des plantes ont pour origine les travaux de KOBERT et de ses élèves sur les *ricine*, *abrine*, *crotine*, *robine*, etc.

On a trouvé des corps semblables chez les quatre Papilionacées (LAND-STEINER et ROBISCHER) et chez six *Datura* (LISLER et PORTHEIM). Ces auteurs ont expérimenté 99 plantes. Ces six *agglutinines* isolées ne sont pas toxiques pour l'animal.

FORD avait déjà signalé les agglutinines d'*Amanita solitaria* et *Amanita muscaria*.



Il y ajoute celles de *Clitocybe multiceps*, *Hygrophorus hypotegus* et *parvulus*, *Entoloma sinuatum* et *Boletus paluster* qui sont thermolabiles à 60-65° et celles de *Lactarius torminosus*, *Hygrophorus pratensis* var. *albus*, *Hygrophorus conicus*, *Entoloma nidorosum*, *Inocybe infelix*, *Flammula betulina*, *Naucoria firma* et *Hypholoma cernua* qui sont thermostabiles comme celles d'*Amanita muscaria*.

L'agglutination des hématies est la même pour toutes. Les corpuscules se rassemblent et l'agglomération n'est détruite que par violente agitation.

Il n'y a rien de connu sur la nature chimique de ces substances qui doivent représenter des produits du métabolisme de la nutrition. Les agglutinines thermostabiles, du type *muscaria*, ne sont pas des protéïdes coagulables, car après coagulation par chauffage, le liquide filtré a gardé ses propriétés agglutinantes.

En certains cas, l'agglutination est accompagnée ou suivie d'hémolyse. Mais les deux actions sont produites par des substances différentes, la simple dilution peut éliminer l'action de l'hémolysine en laissant subsister celle de l'agglutinine; sauf de rares cas où l'hémolysine résiste à 60-65° l'extrait chauffé reste agglutinant.

L'hémolysine se détruit plus facilement que l'agglutinine et de vieux extraits ne montrent plus que de l'agglutination.

De vieux échantillons donnent un extrait seulement agglutinant alors que les récents présentent les deux propriétés. Parfois comme pour l'*Amanita muscaria*, l'agglutinine peut résister à la dessiccation pendant plusieurs années.

Aucune de ces agglutinines ne peut être activé par la lécithine ou par d'autres substances, comme peut s'activer un sérum hémolytique chauffé.

#### Diagnostic médical et médico-légal.

Etant donnés les symptômes gastriques, le médecin devra surtout porter ses doutes sur les aliments que le malade a pu ingérer, et dans ce cas il ne pourra confondre l'empoisonnement par les champignons avec une indigestion ordinaire, voire même avec certaines affections microbiennes (choléra, fièvre typhoïde, etc.) Mais la difficulté sera de connaître l'espèce de champignon qui aura produit l'intoxication.

Aussi devra-t-on, dans ce but, recueillir avec soin les restes du plat, les épluchures, les selles, car on pourra, par ce moyen, dé-

celer des fragments de champignons non attaqués par les suc digestifs, constater la présence de spores, en un mot reconnaître certains caractères qui appartiennent au champignon toxique.

Il sera utile également de demander au malade ou à son entourage l'endroit où se seront récoltés les champignons, et de rechercher soi-même aux endroits indiqués les espèces qui y croissent, afin de les soumettre à l'examen des personnes ayant fait ou vu la récolte.

RENÉ FERRY indique aussi comme caractère très important pour reconnaître l'*Amanita phalloides*, l'odeur particulière que répand ce champignon quand il commence à se dessécher avant même qu'il ait subi aucune altération. C'est une odeur fade qu'il compare à l'odeur de colle forte, chauffée au bain-marie. Cette odeur lui a permis de reconnaître des débris décolorés.

S'il est établi un jour que les cristaux que l'on peut obtenir au moyen de suc de champignon et du réactif de Florence (spermine), sont spécifiques pour quelques espèces de champignons déterminés, leur constatation pourrait être utile pour la reconnaissance de ces champignons en cas d'intoxication. Les spores seront en toutes circonstances, les derniers et souvent les seuls vestiges possibles de la présence d'un champignon. Elles résistent fort bien à la chaleur et au froid, à la dessiccation, à l'humidité et même à l'ébullition.

#### Détermination du champignon ingéré par la spore.

Comme le dit si justement Boudier : malgré l'absence de caractères chimiques que peuvent présenter les déjections de toutes sortes, il est un moyen qui peut être utile pour déterminer sinon avec certitude, du moins avec les plus grandes probabilités, la section à laquelle l'espèce délétère appartient, et quelquefois cette espèce elle-même. Ce moyen c'est l'emploi du microscope. Les spores surtout résistent parfaitement bien sous tous les rapports à la coction dans l'eau pure ou mêlés à des corps gras, et même à la digestion. Je n'ai pu, dit Boudier, trouver des différences entre les spores qui étaient fraîches et celles qui avaient subi la cuisson. Quant au tissu même du champignon, il n'est en rien modifié par la forme et la grosseur des cellules, seulement celles-ci n'ont plus cette turgescence qu'on leur reconnaît à l'état normal. Toutes sont plus ou moins fanées, plissées de diverses manières, et présentent à l'intérieur un grand nombre de granulations très ténues, jaunâtres, dues probablement à des

parcelles d'albumine coagulée par la chaleur. De plus, les champignons offrent des différences remarquables dans l'anatomie de leurs tissus. Leur étude microscopique est donc du plus haut intérêt au point de vue toxicologique.

**Dimensions et formes des principales spores des champignons  
vénéneux ou suspects.**

<i>Amanita phalloïdes.</i>	Spore sphérique.	10 $\mu$
— <i>porphyria.</i>	— sphérique ocellée.	10
— <i>verna.</i>	— ovoïde ponctuée.	12
— <i>virosa.</i>	— —	12
— <i>muscaria.</i>	— ovoïde sphérique.	7
— <i>citrina.</i>	— sphérique.	8
— <i>mappa.</i>	— —	8
— <i>pantherina.</i>	— ovoïde.	10-12
<i>Volvaria gloiocephala.</i>	— ellipsoïde allongée.	15-18
— <i>speciosa.</i>	— ellipsoïde.	13-15 de long, 7 1/2 de large.
<i>Lepiota helveola.</i>	— ellipsoïde.	8-10 $\times$ 4-5
<i>Tricholoma rutilans.</i>	— sphérique hyaline.	4
— <i>sulfureum.</i>	— —	7-8 $\times$ 4 1/2-3 1/2
<i>Entoloma lividum.</i>	— globuleuse, angul.	10
<i>Hypholoma fasciculare.</i>	— pruniforme violette.	8
<i>Mycena pura.</i>	— pruniforme.	6
<i>Pleurotus olearius.</i>	— ovoïde sphérique gut- tulée (crème fauve).	7 à 8
<i>Lactarius torminosus.</i>	— ocellée, blanche.	8
— <i>plumbeus.</i>	— —	8 à 9
— <i>pyrogalus.</i>	— ocellée paille.	10
— <i>rufus.</i>	— gienelée et blanche.	10
<i>Russula emetica.</i>	— —	8
— <i>foetens.</i>	— muriquée.	9
— <i>Queletii.</i>	— —	6-9 $\times$ 6-7
<i>Boletus satanas.</i>	— guttulée.	13

**TABEAU**

indiquant la présence ou l'absence d'hémolysine dans  
les champignons soumis à l'expérience.

**Amanita.**

- Amanita phalloïdes* FR (H.).  
 — *verna* LAM (H.).  
 — *virosa* FR (H.).  
 — *porphyria* ALB. et SCHW (N. H.).  
 — *citrina* SCHAEFF (H.).

*Amanita crenulata* PECK (N. H.).

— *spretta* PECK (petite quantité d'H.) W. FORD.

— *chlorinosma* PECK (N. H.) W. FORD.

— *pantherina* DE C. (H.).

— *mappa* Q. (H.).

— *muscaria* L. (H. quand elle est un peu vieille; N. H.

à l'état jeune).

— *radicata* PECK (N. H.) W. FORD.

— *rubescens* PERS. (H.).

— *junquillea* Q. (N. H.).

— *frostiana* PECK (H.) W. FORD.

— *Morisii* PECK (H.) W. FORD.

— *strobiliformis* WITTAD (N. H.) W. FORD.

*Amanitopsis volvala* PECK (N. H.).

#### Armillaria.

*Armillaria mellea* WAHL (H.).

#### Boletus.

*Boletus erythropus* PERS. (N. H.).

— *clintonionus* PECK (N. H.).

— *cavipes* KALCHBR (N. H.).

— *paluster* PECK (N. H.).

— *chrysenteron* FRIES (N. H.).

#### Cantharellus.

*Cantharellus cibarius* FRIES (N. H.).

#### Craterellus.

*Craterellus cornucopiodies* L. (H.).

#### Clitocybe.

*Clitocybe laccata* SCOP (H.).

— *compressipes* W. FORD (N. H.).

— *illudeus* SCHW (N. H.).

— *multiceps* PECK (N. H.) W. FORD.

#### Clavaria.

*Clavaria formosa* PERS.

## Cortinarius.

*Cortinarius Morisii* PECK (N. H.) W. FORD.

## Entoloma.

- Entoloma lividum* BULL (N. H.).  
 — *salmoneum* PECK (N. H.).  
 — *strictius* PECK (N. H.).  
 — *cuspidatum* PECK.  
 — *nidosum* FRIES (N. H.).  
 — *rhodopodium* FRIES (N. H.).  
 — *sinuatum* FRIES (N. H.).

## Flammula.

*Flammula betulina* PECK (N. H.) (W. FORD).

## Gyrometra.

*Gyromitra esculenta*.

## Galera.

*Galera tenera* SCH. (H.).

## Hydnum.

- Hydnum repandum* L. (H.).  
 — *imbricatum* (N. H.).

## Hygrophorus.

- Hygrophorus pratensis* PERS (N. H.).  
 — *marginatus* PECK (H.) (W. FORD).  
 — *hypothecus* FRIES (N. H.).  
 — *laetus* PERS (N. H.).  
 — *parvulus* PECK (N. H.) (W. FORD).

## Hypholoma.

- Hypholoma fasciculare* HUDS (H.).  
 — *instratum* BRITZ (N. H.).  
 — *cernua* (N. H.).

## Inocybe.

*Inocybe infelix* PECK (H.) (W. FORD).

## Lactarius.

- Lactarius piperatus* SCOP (N. H.).  
— *theiogalus* BULL (H.).  
— *zonarius* BULL (H.).  
— *terminosus* PAUL (H.).  
— *uvidus* FRIES (N. H.).

## Lepiota.

- Lepiota procera* SCOP (N. H.).

## Morchella.

- Morchella esculenta* PERS. (N. H.).

## Naucoria.

- Naucoria firma* PECK (H.). (W. FORD).

## Otidea.

- Otidea onotica* (H.).

## Panaeolus.

- Panaeolus retirugis* FRIES (N. H.).

## Pleurotus

- Pleurotus porrigens* L. (H.).

## Russula.

- Russula emetica* SCHAEFF (H.).  
— *Queletii* FRIES (H.).  
— *squalida* PECK (N. H.).

## Stropharia.

- Stropharia aeruginosa* CURT. (H.) (?).

## Tricholoma.

- Tricholoma nudum* BULL (H.).  
— *sulfureum* BULL (H.).  
— *rutilans* SCHAEFF (H.).  
— *saponaceum* FRIES (H.).  
— *ustale* FRIES (N. H.).



---

Volvaria.

*Volvaria gloiocephala* de CAND (H.).

— *speciosa* FRIES (H.).

— *virgata* GILLET (H.).

— *viperina* FRIES (H.).

N. B. — Sauf pour les espèces exotiques que W. Ford a utilisées, nous avons pu pour les autres espèces déceler ou contrôler la présence ou l'absence d'une hémolysine.

Ce tableau résume nos recherches.

La lettre (H) signale la présence de l'hémolysine (sur le frais).

Les lettres (N. H.) indiquent que le champignon ne contient pas d'hémolysine.

---

## RÉACTIFS CHIMIQUES POUVANT ÊTRE UTILES AU BACTÉRIOLOGISTE ET AU MYCOLOGUE

---

### Alcool acétone

Alcool absolu . . . . .	5 parties.
Acétone . . . . .	1 partie.

### Alcool éther.

Alcool absolu . . . . .	50 cm <sup>3</sup>
Ether rectifié . . . . .	50

### Liquide de Bouin.

Solution aqueuse saturée d'acide picrique . . .	30 volumes.
Formol à 40 o/p. . . . .	10 —
Acide acétique . . . . .	2 —

Usage: Fixateur.

### Liquide de Brun.

Eau distillée . . . . .	140 parties.
Alcool camphré . . . . .	10 —
Glycose . . . . .	40 —
Glycérine . . . . .	10 —

Mêler ensemble eau, glycose et glycérine; ajouter l'alcool camphré et filtrer.

### Liquide de Dubosq-Brazil.

Alcool à 80° . . . . .	150 cm <sup>3</sup>
Formol à 40% . . . . .	60
Acide acétique cristallisable . . . . .	15
Acide picrique . . . . .	1 gr.

Usage : Fixateur.

**Liquueur de Flemming.****A) Mélange faible**

Solution aqueuse d'acide chromique	à 1 p. 100	25 vol.
— — — osmique	à 1 p. 100	10
— — — acétique	à 1 p. 100	10
Eau distillée.		55

**B) Mélange fort.**

Solution aqueuse d'acide chromique	à 1 p. 100	15 vol.
— — — osmique	à 2 p. 100	4 vol.
Acide acétique cristallisable		1

Usage : Fixation des tissus.

**Liquide de Lenhossek.**

Solution aqueuse saturée de $HgCl^2$	75 vol.
Alcool absolu	20
Acide acétique	3

**Liquide de Perenyi.**

Acide chromique à 0,5 p. 100	3
Acide nitrique à 10 p. 100	4
Alcool à 95°	3

**Liquide de Ripart et Petit.**

Eau camphrée	75 grammes.
Eau distillée	75
Acide acétique cristallisable	1
Acétate de cuivre	0 gr. 30
Chlorure de cuivre	0 gr. 30

**Liquide de Zenker.**

Bichlorure de mercure	5 grammes.
Bichromate de potasse	2,5
Sulfate de soude	1 gramme
Eau distillée	100 grammes.

**Liquide de Tellyesnucigky.**

Bichromate de potasse	30 grammes.
Acide acétique.	50 cm <sup>3</sup> .
Eau	1000.
Usage : Fixateur.	

**Sublimé alcoolique.**

Solution aqueuse saturée de sublimé	1 vol.
Alcool absolu. . . . .	2 —
Usage : Fixateur.	

**Sublimé acide.**

Solution aqueuse saturée de sublimé	100 vol.
Acide acétique cristallisable . . . . .	1 à 3.
Usage : Fixateur.	

**Solution d'acide trichloracétique.**

Acide trichloracétique. . . . .	100 grammes.
Eau distillée . . . . .	300 cm <sup>3</sup> .

Faire dissoudre.

Recherche des matières albuminoïdes.

**Liquides de Lutz pour la conservation des champignons avec leur couleur.**

1° Champignons à couleurs insolubles ou peu solubles dans l'eau.

Acétate mercurique. . . . .	1 gr.
Acide acétique cristallisable . . . . .	5 cm <sup>3</sup> .

Triturer un instant dans un mortier, puis ajouter :

Eau distillée. . . . .	1 litre.
------------------------	----------

2° Champignons à couleurs très solubles dans l'eau.

1° *Solution mère :*

Acétate mercurique pur. . . . .	1 gr.
Acétate neutre de plomb pur. . . . .	10 gr.
Acide acétique cristallisable . . . . .	10 cm <sup>3</sup> .

Triturer et ajouter :

Alcool à 90°. . . . .	1 litre.
-----------------------	----------

2° *Liquide conservateur :*

Liquide aqueux ci-dessus. . . . .	} parties égales
Solution mère alcoolique. . . . .	

**Bouillies cuivriques.**

Le cuivre s'emploie à l'état de sulfate ou vitriol bleu mêlé à de

l'ammoniaque (eau céleste) ou avec de la chaux (bouillie bordelaise).

Eau céleste :

Sulfate de cuivre . . . . .	1 kilogramme
Eau chaude . . . . .	3 litres

Après liquéfaction du sulfate et refroidissement du mélange on ajoute :

Ammoniaque à 22°. . . . . 1 litre.

On a ainsi 4 litres d'eau céleste concentrée qu'il suffit de verser au moment de s'en servir, dans 200 à 250 litres d'eau pour avoir le liquide convenable à employer.

La bouillie bordelaise préconisée par MILLARDET résulte du mélange de 8 kilogrammes de sulfate de cuivre dissous dans 100 litres d'eau, avec un lait de chaux qu'on obtient en versant peu à peu 30 litres d'eau sur 15 kilogrammes de chaux vive bien pure. Ces opérations se font de préférence dans des vases de bois ou de grès. Quand les liquides sont complètement froids, on les verse l'un sur l'autre et l'on a une bouillie d'un beau bleu qu'il faut avoir soin d'agiter au moment de s'en servir pour disperser dans toute la masse la chaux qui s'est déposée au fond.

#### Gélatine glycérinée fondue.

La gélatine glycérinée s'obtient de la façon suivante : on laisse ramollir une partie de gélatine, pendant deux heures, dans 6 parties d'eau et on ajoute 7 parties de glycérine et 1 p. 100 d'acide phénique. On chauffe pendant 10 à 15 minutes, en remuant sans cesse, jusqu'à ce que les flocons produits par l'acide phénique aient disparu. On filtre à chaud avec un entonnoir bain-marie ou en tenant l'entonnoir près d'un bon feu.

#### Réactif phosphotungstique

Phosphotungstate de soude. . . . .	25 grammes.
Acide chlorhydrique pur. . . . .	5 cm <sup>3</sup> .
Eau distillée. . . . .	250

Usage. — Recherche des peptones.

**Réactif résorcinique**

Résorcine. . . . .	2 cm <sup>3</sup> .
Eau distillée. . . . .	100 cm <sup>3</sup> .
Acide sulfurique. . . . .	1/2

Usage. — Recherche de la lévulose.

**Réactif d'Uffelmann**

Perchlorure de fer officinal, 1 ou 2 gouttes.	
Eau phéniquée à 4 grammes par litre	100 cm <sup>3</sup> .

Usage. — Recherche de l'acide lactique. Ce liquide de couleur violet améthyste, devient jaune en présence d'acide lactique.

**Tannin acétique**

Tannin. . . . .	4 grammes.
Alcool à 45°. . . . .	190 cm <sup>3</sup> .
Acide acétique cristallisable. . . . .	2

Faire dissoudre.

Usage. — Recherche des peptones.

**Réactif de Millon**

Mercure. . . . .	20
Acide azotique pur. . . . .	40

Faites dissoudre à froid et ajoutez à la solution deux fois son volume d'eau distillée. Laissez reposer vingt-quatre heures et décantez.

Usage. — Recherche des albuminoïdes, de la tyrosine et des phénols.



## PÉRIODIQUES ET LIVRES FRANÇAIS

---

*Bulletin de l'Institut Pasteur.* — Revue et analyse des travaux de bactériologie, médecine, biologie générale, physiologie, chimie biologique. Publication bimensuelle. Paris, Masson et C<sup>ie</sup>, éditeurs.

*Annales de l'Institut Pasteur.* — Articles originaux sur la Bactériologie, parasitologie, biologie générale, etc., Masson et C<sup>ie</sup> éditeurs.

*Bulletin de la Société Mycologique de France.*

*Bulletin de la Société Botanique de France.*

*Revue générale de Botanique.*

BLANCHARD. — *Traité de pathologie générale de BOUCHARD* (art.). II, 1895.

F. GUEGUEN. — *Champignons parasites de l'homme et des animaux.* 1 volume 1904.

SABOURAUD. — *Les Teignes* 1912. Masson édit.

J. GUIART et L. GRIMBERT. — *Diagnostic chimique, microscopique et parasitologique* (3<sup>e</sup> édition), Paris, J. Lamarre et C<sup>ie</sup>, éditeurs. Librairie scientifique et littéraire 1912.

BODIN (E.). — *Les champignons parasites de l'homme.*

M. LANGERON. — *Précis de Microscopie. Collections des précis médicaux.* Masson et C<sup>ie</sup>, éditeurs 1913.

BRUMPT. — *Précis de Parasitologie.* Masson, édit. 1912.

JEANSELME (E.) et RESL (E.). — *Précis de pathologie exotique.*

LENDNER. — *Les mucorinées.*

GEDOELST. — *Les champignons parasites de l'homme et des animaux.* Bruxelles 1912.

GEDOELST. — *Synopsis parasitica* 1911.

VERDUN. — *Précis de parasitologie humaine.* Paris 1907. 2<sup>e</sup> édit. 1913.

SARTORY. — *Les champignons vénéneux,* 1 volume. Le François, édit. 1912.

— *Guide pratique de Bactériologie.* 1 volume avec figures 1916. Le François édit.

LEXIQUE  
DES  
MOTS LE PLUS SOUVENT EMPLOYÉS  
EN MYCOLOGIE

---

**Achlya.** — Champignon oomycète à caractères généraux des Saprolegnia, voir page 125.

**Aciculaire.** — En forme d'aiguille.

**Acladium** LINK. — (Sans rameaux). Filaments stériles rampants. Filaments fertiles non divisés, dressés, terminés à leur partie supérieure par une partie fructifère sur laquelle les spores sont insérées latéralement sans spores terminales. Spores sessiles non cloisonnées incolores ou faiblement colorées comme les filaments, globuleux ou sphériques.

**Acremonium** LINK. — (Une spore terminale). Filaments mycéliens couchés, peu ramifiés, portant latéralement des rameaux fructifères simples, présentant accidentellement une ramification latérale et se terminant par une seule spore incolore ou faiblement colorée.

**Acremonium** POTRONI.

Le genre *Acremonium* est voisin du genre *Acremoniella* Saccardo. Ce dernier possède des filaments rampants ou obliques. Simples, ou rameux, incolores ou noirâtres, partant des rameaux sporifères simples, courts, présentant à leurs extrémités une seule spore. Spore globuleuse ou ovoïde, non cloisonnée noire.

**Aculeolé.** — Muni de petits aiguillons.

**Adhérent.** — Organe plus ou moins soudé à un organe voisin.

**Adné.** — Organe soudé largement à un organe voisin.

**Aleuries.** — Différent des conidies par leur union indissoluble avec les filaments mycéliens dont elles ne sont affranchies que par la destruction de ces derniers (Ex. *Glenospora Graphii*).

**Alutacé.** — Couleur de cuir.

**Amphigène.** — Se dit d'un hymenium qui couvre tout le réceptacle.

**Appendiculé.** — Chapeau. Stipe portant des débris du voile ou d'autres appendices.

**Araneux.** — Formé de filaments fins, longs, entrecroisés comme une toile d'araignée.

**Aseomycète.** — Champignon à thalle cloisonné, se reproduisant à l'aide de spores formées à l'intérieur d'une cellule nommée *asque* renfermant des spores nommées ascospores, page 128.

**Ascospores.** — Voir aseomycète.

**Aspergillus MICHELI 1729.** — Mycelium stérile, ramifié, conidio-phores, dressés, renflés au sommet par une vésicule qui porte soit directement, soit par l'intermédiaire de petits rameaux souples nommés basides, des chaînettes de conidies penchées formant des petits grains arrondis et durs au centre desquels se développent des *asques* à 4 ou 8 spores.

**Asques.** — Voir aseomycète.

**Baside.** — Cellule fructifère, servant de base à des tubes minces qui se terminent chacun par une spore.

**Bifide.** — Organe fendu en deux lobes allongés.

**Bifurqué.** — Divisé en deux branches.

**Blastospores.** — Globules arrondis, analogues aux levures, nés par bourgeonnement du sommet ou du pourtour de filaments tantôt longs, tantôt réduits eux-mêmes à des globules (Endomyces).

**Bulbiforme.** — Renflé en forme de bulbe ou d'oignon.

**Capillilium.** — Organe de dissémination des spores (Myxomycètes et aseomycètes).

**Céracé.** — Qui a la consistance de la cire.

**Cespiteux.** — Champignons qui naissent par touffes.

**Chalara CONDA.** — (Lache, se désarticulant aisément).

Filaments stériles nus ou peu apparents. Filaments simples, dressés, noirâtres, légèrement renflés en ampoules à leur partie inférieure et supportant un chapelet de spores. Spores incolores, unicellulaires, cylindriques, tronquées aux deux extrémités.

**Chandeliers faviques.** — A la périphérie de la culture des *Achorion*. Les filaments mycéliens se terminent en fuseau généralement unicellulaire, les renflements bifurqués sont quelquefois réunis en bouquets. Ce sont les chandeliers faviques.

**Chlamydospores.** — Ce sont des cellules naissant sur le parcours d'un filament mycélien ou d'un sporangiophore et qui demeurent isolées, s'entourent d'une membrane épaisse pour se détacher, dans la suite, du filament qui se dessèche. On doit les envisager comme de véritables kystes et des spores de conservation.

**Chytridiacées.** — Les Chytridiacées ont un thalle généralement dépourvu de membrane, elles se reproduisent au moyen de zoosporanges et donnent naissance à des zoospores possédant un ou deux cils vibratils. La reproduction sexuée a lieu par isogamie ou hétérogamie. Voir p. 114.

**Cladosporium** LINK. — (Rameau sporifère).

Filaments fructifères dressés ou penchés, quelquefois presque couchés, olivâtres, ou d'un jaune verdâtre foncé portant à leur extrémité ou dans le voisinage de la pointe, des spores ovoïdes, simples d'abord puis présentant une cloison. Ces spores peuvent, dans certains cas, présenter plus d'une cloison; les cellules ainsi découpées peuvent devenir distinctes, mais non séparées, de sorte que les spores paraissent disposées en chaquet.

**Claviforme.** — En forme de massue.

**Collarium.** — Rebord saillant auquel est fixée l'extrémité postérieure des lamelles de quelques agaricinées.

**Collerette, Collet, Collier.** — Débris du voile constituant un anneau autour du stipe.

**Columelle.** — Support qui s'élève au centre et dans l'intérieur de certains champignons.

**Conchoïde.** — En forme de conque ou de coquille.

**Confluents.** — Champignons, organes qui convergent vers un même point.

**Conidies.** — Les conidies sont toutes les spores exogènes autres que les basidiospores.

**Conidies ordiales.** — Ce sont celles qui se forment par désarticulations des cellules d'un filament, que ces cellules soient uninucléées ou plurinucléées. On les nomme alors simplement *oidies*.

**Conidiophore.** — Support portant les conidies.

**Corymbiforme.** — Disposé en corymbe.

**Coremié.** — Se dit des filaments agrégés formant un corémium.

**Corps jaunes ou clous faviques.** — Renflements ovoïdes de 8 à 15  $\mu$  de diamètre se trouvant sur le trajet des filaments. Leur contenu est granuleux et une paroi à double contour.

**Cortine.** — Voile filamenteux ou aranéen qui recouvre dans les premiers temps l'hymenium de certains agarics.

**Costé.** — Muni de côtes.

**Corethropsis.** — Voir page 176.

**Cryptococcus.** — Levure sans asque, voir page.

**Cuticule.** — Membrane souvent séparable qui sert d'épiderme aux champignons.

**Cystides.** — Les cystides sont des organes formés de très bonne heure souvent antérieurs aux basides, elles sont en rapport avec les hyphes vasculaires et autres organes sécréteurs, et présentent elles-mêmes les mêmes caractères de cellules sécrétrices. Elles sont toujours binucléées excepté dans quelques cas où leurs noyaux paraissent se fusionner en un seul. (*Boletus tessellatus*), mais leur noyau ne tarde pas à dégénérer. Il n'existe pas chez les Basidiomycètes de paraphyses comparables à celles des Ascomycètes, ce qui a été décrit comme paraphyses, consiste en basides jeunes chez les Coprins à développement lent et graduel de l'hymenium, en basides avortées. Chez les Coprins, ces derniers restent toujours binucléées.

**Cyathiforme.** — Ayant la forme d'un gobelet.

**Deutérogamie.** — Percy Groom (1898) admet une reproduction spéciale, qu'il met en parallèle avec la reproduction sexuée sous le nom de deutérogamie.

**Deutéroconidie.** — Si la protoconidie cesse de se différencier (dans les Hémisporés) continue à croître et se morcèle en une série d'articles qui se séparent, ces derniers portent le nom de deutéroconidies.

**Diaphane.** — Transparent, laissant passer la lumière.

**Dichotome.** — Divisé plusieurs fois en deux branches.

**Décurrentes.** — Lamelles aiguës en arrière et se prolongeant le long du stipe. Tubes décurrents ou tubes dont les plus voisins du stipe naissent sur ce dernier organe.

**Dimidié.** — Partagé par le milieu. Chapeau en forme de demi-disque. Lamelles moitié moins longues que les voisines.

**Discoïde.** — Arrondi en forme de disque.

**Discomycètes.** — Champignons ascomycètes possédant des asques exposés à l'air libre, soit isolés, soit groupés à la surface d'un réceptacle cupuliforme.

**Distantes.** — Lamelles dont les plus longues n'atteignent pas le stipe.

**Distinct.** — Organe indépendant des organes voisins. Stipe qui est comme emboîté dans le chapeau et peut s'en détacher facilement.

**Ecartées.** — Lamelles dont les plus longues n'atteignent pas le stipe

**Echancré.** — Qui porte une cuticule droite ou courbe.

**Echinulé.** — Hérisé de petites épines de poils ou d'aiguillons.

**Ectotrix.** — Se dit des teignes lorsque le parasite est à l'extérieur du cheveu.

**Emarginé.** — Légèrement échancré.

**Empusa.** — Champignon oomycète, parasite le plus souvent des insectes. Mycélium contenu tout entier dans le corps de l'hôte et dépourvu de crampons. Conidiophores incolores, simples claviformes faisant saillie hors des téguments du cadavre. Conidies lisses, voir page 122.

**Endomyces.** — Le genre *Endomyces* se différencie des *Saccharomycetées* par son mycélium typique et par les asques qui se forment toujours aux dépens du mycélium et jamais comme dans les *Saccharomycetées* dans une cellule levure.

**Endothrix.** — Se dit des Teignes (*Trichophyton*) lorsque le parasite est entièrement inclus dans le cheveu sans dépasser la cuticule.

**Endo-Ectothrix.** — Se dit des Teignes (*Trichophyton*) lorsqu'il végète dans l'intérieur du cheveu et au-dessus de la cuticule.

**Endospore.** — Membrane de cellulose interne de l'ascospore.

**Néo-Endothrix.** — Se dit des Teignes (*Trichophyton*) lorsqu'il est à la fois interne et périphérique.

**Enian.** — Voir page.

**Entomophthora.** — Champignon oomycète parasite des Insectes. Mycélium formé d'hyphes cylindriques ou plus ou moins globuleux émettant autour du corps de l'hôte des filaments indivis terminés par des crampons qui fixent l'insecte au support, conidiophores très légèrement rameux, voir page 121.

**Epigé.** — Qui croît à la surface du sol.

**Epiphyte.** — Qui croît sur les herbes.

**Epixyle.** — Qui croît sur le bois.

**Espacées.** — Lamelles séparées par un intervalle de un millimètre au moins.

**Evolution nucléaire.** — L'évolution nucléaire d'une espèce est la série des transformations de l'élément nucléaire primitif de la basidiospore jusqu'à la basidiospore.

**Exoascées.** — Champignon ascomycètes à asques isolés ou réunis les uns aux autres par des articles mycéliens intercalaires.

**Exospore.** — Membrane cellulosique cutinisée externe de l'ascospore. Elle présente souvent un spore germinatif.

**Fasciculés.** — Réunis en petites touffes.

**Fibreux.** — Composé de fibres ou filaments déliés juxtaposés et plus ou moins soudés.

**Fibrilles.** — Minces filaments.

**Fibrilleux.** — Couvert de fibrilles.

**Filiforme.** — Mince et allongé comme un fil.

**Fimicole.** — Qui pousse sur le fumier.

**Fistuleux.** — Creux à l'intérieur.

**Flabelliforme.** — En éventail.

**Foliacé.** — Aplati en lame mince comme une feuille.

**Fourchues.** — Se dit des lamelles qui se divisent en deux.

**Fucescent.** — Tirant sur le brun basané.

**Fugace.** — Qui se détruit après son apparition.

**Fulgineux.** — Ayant la couleur de la fumée.

**Funicule.** — Cordon par lequel les spores, les péridioles, etc... sont fixés au champignon.

**Furfuracé.** — Recouvert d'une matière pulvérulente analogue au son ou à de la sciure.

**Fusifforme.** — Ayant la forme d'un fuseau.

**Fusoma Corda** (fuseau). — Mycélium très peu développé, presque nul spores incolores ou peu colorées, plusieurs fois cloisonnées.

**Fuseaux Multinucléées.** — Appareil reproducteur existant chez les Trichophyton et consistant en une forme massive divisées en plusieurs loges.

**Gamète.** — Voir progamète.

**Glabre.** — Sans poils ni écailles.

**Glabrescent.** — Presque glabre.

**Gleba, glêbe.** — Désigne la chair des champignons angiocarpes.

**Glenospora** BERK et CURT spore à aspect d'œil. Mycélium se développant sous forme de croûte noire à la surface des feuilles et des tiges, filaments fructifères un peu relevés, cloisonnés, brunâtres, un peu ramifiés, à rameaux courts, partant soit à l'extrémité, soit au voisinage du sommet des spores légèrement pedicellées Spores sphériques parfois d'un brun olivacé.



**Gymnocarpe.** — Dont l'hymenium est situé à la surface du réceptacle.

**Gymnoascées.** — Champignons Ascomycètes à asques protégés par un tissu feutré mais ni résistant, ni compact.

**Hansenia.** — Levure à cellules apiculées à asques à une seule ascospore.

**Hémispora.**— Voir page 183.

**Hémisporre.** — Se dit des spores accessoires des mucédinées moins bien différenciées du thalle que les conidies.

**Hétérothallique.** — Mucorinées chez lesquels on constate deux races, + et — et dont les zygospores ne se forment que si les mycélium de ces deux races se trouvent en contact l'un de l'autre (Ex. *Phycomyces nitens nigricans*).

**Hispidé.** — Muni de poils longs étroits et raides.

**Hormodendron Bonorden** (arbre en chapelet). — Mycélium rampant, filaments fertiles dressés, cloisonnés, noirâtres, présentant à différentes hauteurs et souvent loin du sommet des rameaux écourtés du pied et faisant un angle appréciable avec lui, ces rameaux peuvent ou bien se terminer par un chapelet de spores, ou bien se ramifier un petit nombre de fois, chacun des derniers rameaux supportant un chapelet semblable. La partie terminale du pied peut présenter les deux types d'organisation.

**Hymenomycète.** — Champignon dont l'hymenium est extérieur et formé de basides.

**Hymenophore.** — Chapeau des champignons ainsi appelé parce qu'il porte l'hymenium.

**Hygrophane.** — Qui devient de couleur sombre et translucide quand il est imbibé d'eau.

**Hypogé.** — Chapeau souterrain.

**Imbriqué.** — Organe se recouvrant en partie comme les tuiles d'un toit.

**Incarnat.** — Couleur de chair.

**Incisé.** — Parfaitement découpé.

**Incurvé.** — Courbé en dedans. Chapeau dont les bords se replient en dessous.

**Indiella.** — Voir page.

**Infère.** — Se dit de l'anneau fixé plus bas que le milieu du stipe.

**Infléchi.** — Courbé en dedans.

**Infundibuliforme.** — Creusé en entonnoir.

**Inné.** — Se dit des poils, des fibres situés dans l'épaisseur même de la cuticule.

**Insipide.** — Fade, sans saveur.

**Isaria.** — Voir page 180.

**Junquille.** — D'un jaune d'or pâle.

**Karyosomes.** — Corps chromatiques nucléaires autres que la nucléole, celui-ci lorsqu'il présente la même colorabilité que le cytoplasma, est désigné sous le nom de nucléole plasmatique ou plasmosome.

**Laboulbéniciacées.** — Voir page 166.

**Labyrinthé.** — Qui offre à sa surface des sillons tortueux.

**Lacéré.** — Déchiré irrégulièrement.

**Lacinié.** — Divisé en lamelles droites.

**Lactescent.** — Contenant un suc coloré ou ayant la couleur laiteuse.

**Lacuneux.** — Creusé en de petites cavités.

**Leucospores.** — A spores blanches ou blanchâtres.

**Libre.** — Organe qui n'est soudé à aucun autre. Lamelles indépendantes du stipe.

**Ligneux.** — Qui a la dureté du bois.

**Lignicole.** — Qui pousse sur le bois.

**Lilacin.** — De couleur analogue à celle du lilas.

**Linéaires.** — Lamelles étroites et à bords à peu près parallèles.

**Liné.** — Uni, sans rugosités.

**Liquescent.** — Qui se liquéfie.

**Livide.** — De couleur plombée ou bleuâtre et tirant sur le noir.

**Lobé.** — Divisé par des découpures profondes.

**Madurella.** — Voir page 150.

**Malassezia.** — Voir page 184.

**Marcescent.** — Organe qui persiste après s'être desséché.

**Marginal.** — Situé sur le bord d'un organe.

**Marginé.** — Limité par un bord épaissi.

**Méandres.** — Lignes tortueuses.

**Mitose conjugulée.** — C'est le mode de division des synkarions; elle est caractérisée par la formation *synchronique* de deux mitoses, généralement juxtaposées et parallèles, se poursuivant pendant un nombre plus ou moins considérable de générations.

**Mixie.** — Nom trouvé par R. MAIRE en 1900, pour distinguer la fusion nucléaire de la fécondation; les deux cellules qui se fusionnent seront des *mixètes* et le pseudo œuf un *mixote*. La mixie est la fusion de deux noyaux à  $n$  chromosomes en un noyau à  $n$  chromosomes. Nous avons deux types de sexualité principaux: La sexualité avec mixie répandue chez les êtres inférieurs, la sexualité avec fécondation répandue chez les êtres supérieurs.

**Monilia** PERSOON. — Collier en grains) Champignon formé de touffes le plus souvent assez denses, rarement étalé, présentant des filaments dressés plus ou moins vaguement ramifiés et dont les extrémités des dernières ramifications portent des chapelets de spores. Spores variables comme taille. Présence entre chaque spore d'un disjuncteur.

**Moniliforme.** — En forme de chapelet.

**Monospora.** — Champignons ascomycètes à articles ovoïdes bourgeonnants, dont quelques-uns s'allongent en une masse produisant à son intérieur une longue spore aciculaire sans cloison.

**Monospore.** — N'ayant qu'une seule spore.

**Mortierella.** — Champignon oomycète à mycelium ramifié dichotomiquement anastomosé garni de stylospores échinulés. (Conidies. Hyphes sporangifères isolées ou fasciculées, renflées à la base, dressées, parfois rameux terminées par des sporanges volumineux sphériques lisses sans columelle. Sporangioles disposées sur des rameaux secondaires, spores petites globuleuses ou ellipsoïdes inégales guttulées. Zygosporés à courts suspenseurs et abondamment cortiqués.

**Mucroné.** — Terminé par une pointe courte et raide.

**Mucor** LINNÉ 1764. — Champignon pourvu d'un thalle non cloisonné enveloppé d'une membrane cellulospectique, multiplications par œuf, zygosporés. Spores incluses dans un sporange sphéroïdal à columelle cylindrique.

**Multifide.** — Fendu en plusieurs divisions.

**Mycélium.** — Ensemble des organes de nutrition des champignons consistant ordinairement en filaments blancs diversement entrelacés.

**Mycoderma.** — Champignon de la famille des non saccharomycetées, cellules généralement allongées. Voile apparaissant dès le début du développement avec interposition de l'air.

**Myxamibe.** — Se dit des spores de myxomycètes qui se transforment d'abord en zoosporés munis de cils, puis par perte de ces derniers en myxamibe. L'union de plusieurs myxamibes donnent naissance à un *plasmode*.

**Nematospora** — Levures bourgeonnantes. Asques à quatre ascospores fusiformes terminés par un cil.

**Nucleole plasmatique**. — Voir Karyosome.

**Obconique**. — En forme de cône renversé.

**Obovale**. — En forme ovale avec l'extrémité la plus grosse en haut.

**Obtus**. — Terminé par une surface arrondie non pointue.

**Ochracé**. — De teinte analogue à celle de l'ochre.

**Oidies**. — Voir conidies oidiales.

**Ombilic**. — Dépression que l'on remarque souvent au centre du chapeau des champignons.

**Ombiliqué**. — Offrant un ombilic.

**Oomycètes**. — Champignon à thalle filamenteux souvent très réduit, normalement dépourvu de cloisons et formant par conjugaison des œufs ou zygospores. Voir chytridiacées, page 113.

**Ongulé**. — Ayant la forme de l'ongle.

**Oospora**. — Voir page 102.

**Opercule**. — Sorte de couvercle qui s'ouvre à l'époque de la maturité.

**Papyracé**. — Ayant la texture du papier.

**Parasite**. — Champignon qui vit aux dépens d'une autre plante dont il absorbe les sucs.

**Pathogènes** (*Champignons*). — Champignons qui peuvent s'implanter dans les organismes vivants animaux ou végétaux et provoquer des troubles profonds, parfois mortels.

**Pectiné**. — En forme de peigne.

**Pédicule**. — Petit pied, stipe du champignon.

**Pellucide**. — Transparent.

**Peluché**. — Pelucheux, pelu, couvert de poils qui se détachent des tissus.

**Penicillium**. — Voir page 147.

**Peridie**. — Enveloppe qui renferme l'hymenium des champignons.

**Peridiole**. — Péridie très petit.

**Peridium**. — Synonyme de peridie.

**Perithèce**. — Peridiole de consistance dure.

**Perisporiacés.** — Champignons ascomycètes dont les asques sont protégés par une coque dure.

**Persistant.** — Dont la durée suit celle du champignon.

**Phialide.** — Corps existant chez les Conidiosporés, ayant la forme d'une bouteille avec col plus ou moins effilé à l'extrémité duquel s'insèrent les Conidies (ressemblant aux stérigmates des Basidiomycètes).

**Pichia.** — Levure à ascospores hémisphériques ou anguleuses. Rudiments mycéliens peu développés. Pas de fermentation.

**Piléole.** — Nom donné aux divers chapeaux quand le même champignon en a plusieurs.

**Plasmode.** — Voir myxamibes.

**Plasmosome.** — Voir Karyosome.

**Pores.** — Cavités souvent tubuleuses, qui s'ouvrent à la face inférieure du chapeau des Polyporés.

**Progamète.** — On appelle progamètes chez les Mucorinées les deux filaments renflés en massue qui entrent en conjugaison. Le progamète comprend :

1° L'extrémité dont le contenu entre en conjugaison et constitue le gamète proprement dit.

2° Le reste de la branche prend le nom de suspenseur.

**Prophialide.** — Les phialides naissent sur un article de forme et de structure spéciale nommé prophialide.

**Protobaside.** — Voir Protobasidiomycètes.

**Protobasidiomycètes.** — Champignons caractérisés par la *protobaside*, c'est-à-dire la baside cloisonnée. Ils forment un groupe très naturel qui se divise en deux séries : les protobasidiomycètes stichobasidiés à cloisons de la protobaside transversales et les protobasidiomycètes chitobasidiés à cloisons longitudinales.

Les protobasidiomycètes stichobasidiés représentent donc le prototype des basidiomycètes : ce sont eux qui ont gardé le plus d'affinités avec leurs ancêtres ascomycètes.

**Protochromosomes.** — Ce sont des granulations présentant toutes les réactions des chromosomes et leur aspect, *mais de nombre variable*, qui se forment à la prophase de la première division de la baside, se groupent sur le fuseau, puis se fusionnent finalement à la métaphase ou chromosomes définitifs.

Les mitoses de la baside sont dites *longitudinales* ou obliques, quand l'axe de leur fuseau est parallèle ou oblique au grand axe de la baside, elles sont dites *transversales*, quand l'axe de leur fuseau est perpendiculaire au grand axe de la baside.

Les mitoses de la baside sont dites *apicales*, quand elles se produisent au sommet de la baside et non en un point voisin du milieu, portion du noyau au repos.

**Protoconidie.** — Dans les hémisporés, le premier rendement du mycélium fertile porte le nom de protoconidie.

**Pruineux.** — Couvert de poils courts et mous comme le duvet du visage chez un adolescent.

**Pulviné.** — En forme de coussin.

**Papille.** — Petite éminence arrondie.

**Paraphyses.** — Filaments stériles qui se voient entre les cellules fertiles des champignons ascomycètes analogues aux cystides chez les basidiomycètes.

**Radicaux.** — Dont la stipe se prolonge et s'enfonce dans la terre en forme de racine.

**Radié.** — Marque de lignes rayonnantes partant d'un même centre.

**Receptacle.** — Partie du champignon qui produit l'hyménium.

**Refléchi.** — Organe qui s'est retourné dessous, dessus.

**Reniforme.** — En forme de rein comme le haricot.

**Réticulé.** — Parcouru de veines entrelacées en forme de réseau.

**Resupiné.** — Chapeau sessile étalé sur son support et renversé de manière que la surface hyméniale ou surface inférieure soit en dessus.

**Rhinocladium.** — (Rameau à denticulations) filaments fertiles, noirâtres, ramifiés en dichotomie. Plus ou moins irréguliers, dressés, portant vers l'extrémité des derniers ramuscules des spores latérales et terminales disposées sur des denticulations, spores globuleuses, ovales, noirâtres.

**Rhizomucor.** — Champignons oomycètes mucorés, stolons irréguliers, pédoncules sporangifères ramifiés, columelle ovoïde rétrécie à la base, voir page 118.

**Rhizopus.** — Champignons oomycètes mucorés possédant des stolons réguliers, pédoncules sporangifères simples, fasciculés, columelle hémisphérique persistante en forme de massue ou de champignon, voir p. 119.

**Rubigineux.** — Un peu rouillé.

**Saccharomyces.** — Levure bourgeonnante se reproduisant par ascus et ascospores, page 131.

**Saccharomycopsis.** — Levure possédant des ascospores à deux membranes.

**Saccharomycètes.** — Voir page 129.

**Sapide.** — Savoneux.



**Saprolegniées.** — Champignons oomycètes aquatiques dont le thalle non cloisonné est entouré d'une membrane celluloso-callosoïque. Œuf résultant de la fusion de deux cellules dissemblables (Pollimide ♂ oosphère ♀).

**Saprolegnia.** — Champignon oomycète à mycélium filamenteux ramifié, zoosporanges claviformes terminaux, dans l'axe desquels continu à s'accroître le filament sous-jacent de manière à former plusieurs sporanges emboîtés. Organes à plusieurs oosphères anthéridies petites, claviformes ou ovales développées au sommet des rameaux grêles.

**Scabre.** — Rude au toucher.

**Schwaniomyces.** — Champignon de la famille des non saccharomycètes. Vestige de copulation, ascospore à une seule membrane verruqueuse, sessile au milieu d'un filet saillant.

**Septé.** — Divisé par des cloisons.

**Sétacé.** — En forme de poil raide.

**Sinuées.** — Lamelles dont l'extrémité postérieure est arrondie de manière qu'elles ne touchent point le stipe ou ne le touchent que par leur base.

**Sinueuse.** — Présentant des replis des sinuosités.

**Spatulé.** — De surface large et arrondie en haut, rétrécie en bas comme une spatule.

**Spicaria Harz.** — (En épi). Mycélium rampant, filaments fertiles dressés, cloisonnés, incolores, rarement noirâtres présentant un ou deux et même plusieurs verticilles de rameaux. Ces rameaux primaires peuvent porter des rameaux secondaires qui, eux aussi, sont verticillés, et qui présente une extrémité sporifère acuminée. Les spores sont en longs chapelets, quelquefois ramifiés à leurs extrémités, chacune d'entre elles est incolore et non cloisonnée.

**Sporangiophores.** — Le progame procède d'hyphes aériennes quelconque ou d'une branche spéciale différente du reste des filaments sporangifères, dans ce cas on distingue des hyphes non sexuées ou *sporangiphores* et des hyphes sexuées au *zygospores*.

**Spores.** — Organes reproducteurs des champignons consistant en une cellule simple ou plus rarement cloisonnée.

**Sporotrichum Lisek.** — (Spores, poils) filaments fructifères couchés, ramifiés, cloisonnés de même diamètre sur toute leur longueur, incolores ou faiblement colorés. Spores naissant à l'extrémité ou sur les dents terminales des ramuscules, en général solitaires, ovoïdes ou globuleuses, incolores ou faiblement colorés, unicellulaires.

**Squames** — Ecaillés.



**Squarrosus.** — Relevé d'écailles frileuses retroussées.

**Stade synopsis.** — (Synopsis MOORE (1895) *Dolichonema Stadium* ROSEN) (1825) c'est un stade par lequel passe le premier noyau qui va à sa division montrer le nombre réduit de chromosomes, c'est-à-dire ici le noyau de la baside; il est caractérisé par la formation de *filaments chromatiques très fins et très longs*, entortillés et enchevêtrés, le nucléole étant d'ordinaire latéral vacuolaire ou plus petit qu'à l'ordinaire.

**Stérigmates.** — Organes en forme de tubes minces qui surmontent les basides et se terminent par une spore.

**Stérigmatocystis.** — Voir page 144.

**Stilospores.** — Les stilospores ont été observées par V. TIEGHEM dans le genre *Mortierella*, ce sont des cellules isolées sur le filament mycélien fixées latéralement sur un petit pédicelle ou stérigmate. Leur présence est intéressante à constater chez les mucorinées sporangiophorées, car chez ces conidiophorées (ce mode de reproduction est devenu la règle). Les stilospores sont en effet assez semblables aux conidies qui ne sont que des productions exogènes portées à l'extrémité d'un filament ou à la surface d'une tête.

**Stipe.** — Pied qui porte le chapeau des champignons.

**Stipité.** — Muni d'un stipe.

**Strié.** — Muni de sillons peu profonds ou marqués de lignes simulant des stries.

**Striolé.** — Portant des stries peu marquées.

**Subéreux.** — Ayant la consistance du liège.

**Supère.** — Se dit de l'anneau fixé au tiers supérieur du stipe.

**Suspenseur.** — Voir progamète.

**Sylvicole.** — Qui pousse dans les forêts.

**Synkarion.** — Le synkarion est le complexe de deux noyaux si constant dans la plupart des cellules des basidiomycètes; il est caractérisé par l'association étroite de ses deux éléments, dont toutes les variations sont corrélatives et simultanées, en particulier la division qui se fait par mitose conjuguée.

**Tarse favique.** — Les filaments faviques présentent une autre particularité, celle de développer de temps en temps des cellules d'où naissent trois à quatre filaments nouveaux, l'ensemble prend le nom de *tarse favique*.

**Testacé.** — Couleur de poterie.

**Thécasporé.** — Champignons dont les spores prennent naissance dans les asques ou thèques.

- Tokelau.** — Voir page 148.
- Tomenteux.** — Couvert de poils courts, soyeux, comme feutrés.
- Tortillons.** — Organes en forme de vrilles à plusieurs spores que l'on rencontre parfois chez certaines mucédinées.
- Torula.** — Champignons ascomycètes. Famille des non saccharomycètes. Cellules généralement sphériques, forment souvent des voiles, mais seulement après la fermentation.
- Thichophyton.** — Voir page 154.
- Trichosporon.** — Voir page 185.
- Triquétre.** — A trois angles et trois faces.
- Tronqué.** — Organe dont l'extrémité est raccourcie comme si on en avait enlevé un morceau.
- Tubéreux.** — Rentré, présentant des excroissances charnues.
- Turbiné.** — En forme de toupie ou de cône renversé.
- Vampyrellacées.** — Organismes possédant comme les myxomycètes un thalle plasmodique qui rampe à la surface des êtres vivants et y pénètre en perforant leur membrane sporange donnant des zoospores, se transformant parfois en kyste. Voir page 112.
- Velu.** — Revêtu de poils longs, mous et rapportés.
- Vergeté.** — Parcouru de lignes parallèles ou rayonnantes de couleur spéciale.
- Versicolore.** — De couleur variable.
- Villeux.** — Velu.
- Villosité.** — Prolongements filamenteux qui rendent la surface d'un organe douce et comme veloutée.
- Voile** — Enveloppe qui couvre certains champignons. Il y a le voile général qui enveloppe le champignon tout entier et le voile partiel qui ne s'étend que sur la surface hyméniale. Ce voile peut être une membrane, un tissu aranéen ou une simple rugosité ou même une couche pulvérulente.
- Volve.** — Nom donné au voile général quand il est membraneux et qu'il laisse des débris à la base du stipe ou à la surface du chapeau.
- Zygospores.** — Voir sporangiophores.
- Zygotactisme.** — On attribue la reproduction sexuelle chez les Mucorinées à un différentiel existant entre deux races, dont les filaments ou progamètes s'attirent en raison d'un tactisme particulier appelé *zygotactisme* par BLAKESLEE et *amphitactisme* par VUILLEMIN.



## TABLE ALPHABÉTIQUE DES MATIÈRES

### A

	Pages.
Accentuateurs . . . . .	89
Acétaldéhyde . . . . .	3
Achlya . . . . .	126
— prolifera . . . . .	126
— racemosa . . . . .	126
— NOVIECKII . . . . .	126
Achorion . . . . .	161
— SCÖHNLEINI . . . . .	161
Acremonium POTRONI . . . . .	177
Actinomyose . . . . .	193
Action des champignons sur le lait . . . . .	63
— des champignons sur les nitrates . . . . .	77
Agar-agar . . . . .	17
Agglutination . . . . .	244
Agglutinines . . . . .	244, 247, 248
— des champignons . . . . .	291
Aiguilles de platine . . . . .	46
— de verre . . . . .	48
Alcool-acétone . . . . .	299
Alcool (Recherche des traces d' . . . . .	68
Aleuries . . . . .	305
Aleuriosporés . . . . .	170
Aldéhydes (Recherche des) . . . . .	68
Alexine . . . . .	250
Amanita hémolysine . . . . .	281, 287, 289
— toxine . . . . .	287, 289
Ambocepteur . . . . .	250
Anaérobies (Recherche des champignons . . . . .	57
Animaux Inoculation aux animaux . . . . .	105
— Tableau des animaux par degré de réceptivité . . . . .	108
Anticorps . . . . .	250, 257
Antigène . . . . .	257

Appareils et produits indispensables pour le laboratoire de bactériologie et de mycologie du pharmacien . . . . .	1
Applications à l'ultramicroscope . . . . .	21
A quelle température les propriétés hémolytiques sont-elles détruites. (A. Phalloïdes) . . . . .	286
Aqueuses (Solutions colorantes) . . . . .	94
Artichauts . . . . .	11
Ascomycètes (Classification des) . . . . .	128
Ascomycètes . . . . .	128
Aspergilles pulmonaires . . . . .	139
Aspergillus bronchialis . . . . .	139
— fumigatus . . . . .	140
— fumigatoïdes . . . . .	142
— lepidophyton . . . . .	148
— Fontoynti . . . . .	143
Autoclave de Radais . . . . .	29
Basidiomycètes (Généralités sur les) . . . . .	262
Bichlorurées (Solutions colorantes) . . . . .	98
Biuret (Réaction du) . . . . .	63
Blastosporés . . . . .	171

## B

Bleu d'azur . . . . .	91
— de Koch . . . . .	98
— de Kühne . . . . .	97
— de Löffler . . . . .	97
— de Roux . . . . .	98
— de Sahli . . . . .	97
— lactique . . . . .	93, 101
— Victoria . . . . .	91
— de méthylène phéniqué . . . . .	96
Bordet Gengou (Réaction de) . . . . .	254
Bouillon carbonaté . . . . .	13
— glycérimé . . . . .	13
— Martin . . . . .	13
— de Gedoelst . . . . .	19
— d'estomac de porc . . . . .	13
— de poule . . . . .	12
— au rouge-neutre (de Savage) . . . . .	14
— sucrés . . . . .	12
— de veau . . . . .	12
— de viscères . . . . .	12
Bouin (Liquide de) . . . . .	299
Büchner (Tube de) . . . . .	58
Butyrique (Recherche de l'acide) . . . . .	69

## C

pages

Caractères différentiels des <i>Sporotrichum</i> . . . . .	175
Caractères des cultures des différents champignons . . . . .	37
Caractères des cultures en piqûre sur gélatine . . . . .	55
Caractères des cultures en milieux liquides . . . . .	55
Caractères des cultures en stries . . . . .	56
Caractères des microsporum dans leur vie parasitaire . . . . .	160
Caractères des trichophyton dans leur vie parasitaire . . . . .	154
Carmin au borax alcoolique de Grenacher . . . . .	99
Carmin aluné acétique . . . . .	99
Carotte . . . . .	11
Caséase . . . . .	63
Cellule de Van-Tieghem et Le Monnier . . . . .	57
Celloïdine . . . . .	283
Chaleur (Fixation par la) . . . . .	42
Chaleur (Stérilisation par la) . . . . .	29
Chambre-Claire . . . . .	26
Champignons des Caratés . . . . .	149
Choix des Animaux . . . . .	105
Choix des Objectifs . . . . .	23, 25
Chytridiées . . . . .	113
Chytridium . . . . .	114
Chytridium endogenum . . . . .	114
Classification des Ascomycètes . . . . .	128
Classification des méthodes de coloration . . . . .	87
Clef des Entomophthorées parasites . . . . .	122
Clef des Mucorées parasites . . . . .	115
Clef des Saprolégniées parasites des animaux . . . . .	125
Coagglutination . . . . .	247
Coagglutinines . . . . .	246, 247
Cobayes (Inoculation aux) . . . . .	106
Colorations directes . . . . .	87
Colorations indirectes . . . . .	87
Colorations en masse . . . . .	88
Colorations régressives . . . . .	88
Colorations progressives . . . . .	87
Colorations simples . . . . .	88
Colorations combinées . . . . .	88
Coloration des granulations dans les Oospora . . . . .	241
Colorants principaux . . . . .	93
Colorants spéciaux pour l'étude mycologique . . . . .	100
Colorants cytologiques . . . . .	279
Comment recueillir le sang pour la réaction de fixation mycosique . . . . .	251
Comment se rendre compte des propriétés hémolytiques d'un suc de champignon? A. Phalloïdes, par exemple) . . . . .	285
Comment constituer une Sporothèque . . . . .	273
Comment reconnaître la couleur des spores d'un champignon? . . . . .	272
Comment prélève-t-on des cheveux des teigneux? . . . . .	231
Complément . . . . .	250

	pages
Conidiosporés . . . . .	170
Conservation des levures. . . . .	216
Conseils sur l'entretien du microscope. . . . .	28
Conseils sur les préparations microscopiques. . . . .	40
Conservation des cultures de champignons. . . . .	40
Conservation des spores. . . . .	273
Corethropsis. . . . .	176
Corethropsis hominis. . . . .	176
Coupes à la celloidine. . . . .	283
Crachats (Examen microscopique des. . . . .	225
Cryptococcus. . . . .	134
Cryptococcus degenerans. . . . .	134
Cryptococcus hominis. . . . .	134
Cryptococcus linguae pilosa. . . . .	134
Cryptococcus Rogerii. . . . .	135
Culture des champignons. . . . .	34
Culture des champignons aérobies. . . . .	34
Culture des champignons en anaérobiose. . . . .	56
Culture des champignons en milieux spéciaux. . . . .	51
Culture des champignons des teignes. . . . .	231
Culture des saprolégniées. . . . .	207
Culture sur porte-objets. . . . .	57
Cytologie. . . . .	279, 282
Cytologie des levures. . . . .	214

## D

Debaryomyces. . . . .	129
Debove (Seringue de). . . . .	2
Décoctions végétales. . . . .	9, 10
Dénombrement des spores. . . . .	106
Description des principales espèces pathogènes pour l'homme et les animaux. . . . .	110
Dessin des préparations microscopiques. . . . .	26
Détermination du nombre de cellules dans une culture. . . . .	106
Développement des cultures et modification des milieux. . . . .	55
Déviation du complément. . . . .	249, 251
Diagnose des aspergillacées. . . . .	227
Discomyces (Voir oospora. . . . .	238
Discomycètes. . . . .	128
Dissémination des champignons en milieux liquides et solides. . . . .	41
Dosage des azotes total, acides aminés, ammoniacque. . . . .	89
Dubosq-Brazil (Liquide de). . . . .	299

## E

Eau de Levure. . . . .	9
— de Malt. . . . .	10
— de touraillons. . . . .	9



	pages
Eclairage du microscope. . . . .	23
Emploi de la chambre claire. . . . .	26
— du micromètre oculaire. . . . .	26
Empusa. . . . .	123
Endomyces. . . . .	135
Endomycès albicans. . . . .	135
Entomophtrées. . . . .	121, 122
Entomophthora. . . . .	121
— aphidis. . . . .	124
— aphrophora. . . . .	125
— apiculata. . . . .	124
— arrenoctonæ. . . . .	124
— Carpentieri. . . . .	124
— conica. . . . .	124
— culicis. . . . .	124
— cyrtoneure. . . . .	125
— forficula. . . . .	125
— gleospora. . . . .	125
— muscivora. . . . .	124
— tipulæ. . . . .	125
— saccharina. . . . .	125
— papillata. . . . .	124
— sphærosperma. . . . .	124
— scatophaga. . . . .	124
— syrphi. . . . .	124
Espèces pathogènes pour l'homme ou pour les animaux. . . . .	111
Etude du pouvoir pathogène des mucorinées. . . . .	205
Etudes diverses. . . . .	200, 207
Examen et coloration des champignons filamenteux. . . . .	100
— microscopique des champignons dans une culture. . . . .	40
— en goutte pendante. . . . .	41
— sur lame ordinaire. . . . .	41
— des cheveux faviques. . . . .	236
— — de teigneux. . . . .	231
— microscopique du parasite du favus dans la lésion. . . . .	236
Expérimentation physiologique. . . . .	105
Extraction et propriété de l'amanita-toxine. . . . .	289
Extraction de l'amanita-hémolysine. . . . .	289

## F

Favus. . . . .	161, 236
Favus d'origine humaine. . . . .	165
Favus d'origine animale. . . . .	165
Fils de platine. . . . .	46
Fixateurs. . . . .	300
Fixation du complément. . . . .	250
Fixation microscopique. . . . .	42
Fixation des préparations microscopiques. . . . .	42
Flemming (liquide de). . . . .	300

	pages
Fonctionnement du régulateur à mercure. . . . .	32
Fonctionnement du régulateur bimétallique. . . . .	32
Four Pasteur. . . . .	29
Fuchsine phéniquée. . . . .	95
Fuchsine phéniquée diluée. . . . .	95

## G

Gélatine ordinaire. . . . .	16
Gélatines diverses. . . . .	16, 19
Gélatine glycinée fondue. . . . .	16
Gelées. . . . .	11
Gelées d'amidon. . . . .	11
— minérales. . . . .	7
Géloses diverses. . . . .	17
Gélose (Milieux à base de). . . . .	17
Gélose aseptonée. . . . .	20
— gélatinée. . . . .	19
— glycinée. . . . .	19
— de Sabouraud. . . . .	19
Gram (Méthode de). . . . .	103
Granulations (Coloration des granulations chez les oospora). . . . .	241
Grossissements. . . . .	24
Gruby (teigne de). . . . .	161
Gymnoascées. . . . .	154
Gymnococeacées. . . . .	142

## H

Haplococcus. . . . .	112
Haplococcus reticulatus. . . . .	112
Hemalun de Mayer. . . . .	98
Hémisporés. . . . .	171
Hémispora stellata. . . . .	183
Hémoculture. . . . .	219
Hémolyse. . . . .	289
Herpès circiné. . . . .	235
Hormodendron Fontoyonti. . . . .	183
Hydrate de carbone (action des ch. sur les). . . . .	66
Hydroalcooliques (solutions colorantes). . . . .	94
Hydrogène sulfuré (recherche de l'). . . . .	70
Hyphomycètes parasites de l'homme. . . . .	169
Hystériacées. . . . .	128
Immersion (objectifs à). . . . .	22
(Manière de se servir des objectifs à). . . . .	23

	pages
<b>I</b>	
Inclusion . . . . .	276
Indiella Mansonii . . . . .	152
— Regnieri . . . . .	153
Indol (Recherche de F) . . . . .	76
Inoculations expérimentales . . . . .	103
Introduction . . . . .	V
Isaria . . . . .	180, 242
— seulement (des champignons) . . . . .	53

**K**

Keystall violet phéniqué . . . . .	95
Kühne Bleu de . . . . .	96

**L**

Laboulbéniciées . . . . .	166
Principales Laboulbéniciées . . . . .	167
Lactique (Recherche de l'acide) . . . . .	70
Lactophénol . . . . .	100
Lactose (Fermentation du) . . . . .	63
Lait (Action des champignons sur le) . . . . .	63
Lait d'amidon . . . . .	11
Lait de riz . . . . .	11
Lames . . . . .	82, 83
Lamelles . . . . .	82, 83
Lapins (inoculations aux) . . . . .	103
Levures . . . . .	134
Liquide de Bouin . . . . .	299
— Flemming . . . . .	300
— Hansen . . . . .	5
— Lenhossek . . . . .	300
— Raulin neutre . . . . .	5, 6
— — acide . . . . .	5, 6
— Pasteur . . . . .	4
— Pereny . . . . .	300
— Hayduck . . . . .	3
— Ripart et Petil . . . . .	300
— Cohn . . . . .	3
— Tellyesnucigky . . . . .	300
— Nageli . . . . .	3
Liquide de Zenker . . . . .	300
— de Winogradsky . . . . .	6
— de Mayer . . . . .	8
— de Laurent . . . . .	8

Liquide de Veiryski . . . . .	pages 8
— Fixateurs . . . . .	299

## M

Madurella . . . . .	150
Madurella mycétomi . . . . .	150
— Bovoï . . . . .	151
— Tozeuri . . . . .	152
Malasseziafurfur . . . . .	184
Maltosés (Milieux) . . . . .	19
Manière d'opérer pour effectuer lesensemencements . . . . .	44
Marche à suivre pour l'étude complète des champignons . . . . .	34
Martin (Bouillon) . . . . .	13
Matières amylacées cuites . . . . .	111
Mensuration . . . . .	24
Mercaptan . . . . .	75
Méthode d'ensemencement en général pour les teignes . . . . .	235
Méthode d'inclusion . . . . .	282
Méthode d'inoculation des terres (Mucorinées) . . . . .	200
Méthode de Gram . . . . .	103
— de Schlegel . . . . .	240
— de Morel et Dulaus . . . . .	240
— de Sartory-Lasseur . . . . .	239
— de Adamson . . . . .	232
— de Colhoum . . . . .	233
— de Wälsch . . . . .	233
Méthode de la trainée du pus (Sporotrichum) . . . . .	238
Microscope (Soin à donner au) . . . . .	28
Microscope (Emploi du) . . . . .	21, 23, 24
Microscopiques (Examens) . . . . .	23, 24
Micromètre-objectif . . . . .	24
Microsiphonées . . . . .	171
Microsporium . . . . .	159
Microsporium Audouini . . . . .	161
Microsporium parasites de l'homme . . . . .	160
Milieux de Cohn . . . . .	5
— Pasteur . . . . .	4
— Barthelat . . . . .	7
— Van Tieghem et Le Monnier . . . . .	7
— Raulin . . . . .	5, 6
— à base d'hydrate de carbone . . . . .	38
— Sabouraud . . . . .	19
— Naegeli . . . . .	5
— de cultures divers . . . . .	4
— Brefeld . . . . .	7
— liquides minéraux . . . . .	4
— Gorodkowa . . . . .	19

	pages
Milieux de végétaux. . . . .	9
— Lendner. . . . .	17
— Veillon. . . . .	20
Millon (Réactif de). . . . .	303
Mise en évidence des granulations chez les oospora. . . . .	241
Monocystacées. . . . .	112
Monospora. . . . .	131
Monospora cuspidata. . . . .	131
Montage des coupes. . . . .	282
Mordancage. . . . .	88
Mordants. . . . .	89
Morphologie comparée de l'Achorion et du Trichophyton. . . . .	165
Moût de raisin. . . . .	9
Moût de bière. . . . .	9
Mucédinées. . . . .	168
Mucédinées (Classification). . . . .	169
Mucor. . . . .	114
Mucorinées. . . . .	114
Mucor corymbifer. . . . .	116
Mucor pusillus. . . . .	116
Mucor Regneri. . . . .	116
Mucor Truchisi. . . . .	118
Muguet. . . . .	135
Mycoderma. . . . .	130
Myxastrum. . . . .	112
Myxastrum radians. . . . .	122

## N

Nematospora. . . . .	129
Nettoyage des lames et lamelles. . . . .	82
— des objectifs et oculaires. . . . .	28
Nitrates (Action des champignons sur les). . . . .	77
Nitrites (Recherche des). . . . .	79

## O

Objectifs divers. . . . .	23,	25
— à immersion (Choix des). . . . .	24,	25
Observation de l'hymenium. . . . .		268
Obtention d'une culture pure à partir d'une seule cellule microbienne. . . . .		200
Obtention des zygospores. . . . .		201
Oculaires divers (Choix des). . . . .		22
Œufs. . . . .		201
Olpidium. . . . .		113
Olpidium gregarium. . . . .		114
— macrosporum. . . . .		114
— arcella. . . . .		114
— zoocolum. . . . .		114

	pages
Oomycètes. . . . .	114
Oospora. . . . .	192
Oospora bovis. . . . .	193
— buccalis. . . . .	194
— bronchialis. . . . .	194
— pulmonalis. . . . .	194

## P

Parasites du Tokelau. . . . .	148
Pasteur (Four de). . . . .	29
— (Liquide de). . . . .	4
Patellariées. . . . .	128
Pathogènes (espèces). . . . .	111
Penicillium. . . . .	146
— brevicaule. . . . .	146
Peptones (Recherche des). . . . .	63
Périodiques. . . . .	304
Périssporiacées. . . . .	139
Petit-Lait. . . . .	16
Phénols (Recherche des). . . . .	69
Phialidés. . . . .	170
Phosphotungstique (Réactif). . . . .	288
Plasmodiophora. . . . .	113
Plasmodiophora-Brassicæ. . . . .	113
Pommes de terre diverses (préparation). . . . .	10
Pouvoir de multiplication d'une levure. . . . .	213
Prélèvement des cheveux de teigneux. . . . .	231
— poils de barbe (teigne). . . . .	231
Préparation des fils de platine. . . . .	16
Procédé d'étude des produits formés dans les cultures. . . . .	62
— spécial pour colorer les granulations. . . . .	241
Produits de fermentation aux dépens de l'aliment hydrocarboné. . . . .	66
Prophialidées. . . . .	170
Protomyxa. . . . .	113
— aurantiaca. . . . .	113
Pyrenomycètes (Classification des). . . . .	165
Pityrosporum ovale. . . . .	185

## R

Radais (Autoclave). . . . .	30
Raulin (Liquide de). . . . .	5
Réactifs divers. . . . .	299
Réaction de Wassermann. . . . .	254
Réaction de Widal. . . . .	246

	pages
Recherche des traces d'alcool . . . . .	68
— des acides organiques . . . . .	69
— de l'acide acétique . . . . .	70
— des acides aminés . . . . .	81
— de l'acide butyrique . . . . .	69
— — formique . . . . .	70
— — lactique . . . . .	70
— de l'hydrogène sulfuré . . . . .	70
— de l'A. fumigatus dans les crachats . . . . .	223
— des grains jaunes . . . . .	241
— de l'acide succinique . . . . .	70
— des albumoses et des peptones . . . . .	63
— des produits volatils neutres . . . . .	67
— de l'ammoniaque . . . . .	76
— de l'asparagine . . . . .	80
— de la leucine . . . . .	79
— des Mucorinées parasites au sein des lésions . . . . .	77
— du mercaptan . . . . .	75
— de la mucine . . . . .	66
— des nitrates . . . . .	202
Recherche de l'indol . . . . .	71
— des nitrites . . . . .	79
— des spores dans les selles . . . . .	293
— des phénols . . . . .	69
— de l'Endomyces albicans dans la cavité buccale . . . . .	221
— de la phénylalanine . . . . .	80
— de la triméthylamine . . . . .	77
— de la trypsine . . . . .	63
— du tryptophane . . . . .	75
Règles à suivre pour la détermination des Mucorinées . . . . .	199
Règles à suivre pour manœuvrer l'autoclave . . . . .	30
Régulateur à mercure . . . . .	32
— bimétallique de Roux . . . . .	32
Remarques au sujet des colorants . . . . .	92
Resoremique Réactif . . . . .	303
Rhizomucor . . . . .	118
R. parasiticus . . . . .	118
R. septatus . . . . .	118
Rhizopus . . . . .	120
R. Colm. . . . .	120
R. equinus . . . . .	121
Rouges divers . . . . .	93
Roux Etuve et régulateur de . . . . .	32

## S

Saccharomyces . . . . .	131
Saccharomyces anginae . . . . .	131
— tumefaciens . . . . .	131
— Blanchardi . . . . .	132
— granulatus . . . . .	132



	pages
Saccharomyces Le Monnieri . . . . .	133
Saccharomycétées . . . . .	129
Saccharomycopsis . . . . .	130
Saprolégniées. . . . .	125
Saprolégnia. . . . .	125
Saprolégnia monoica . . . . .	126
— ferax. . . . .	126
Schwaniomyces. . . . .	130
Schizosaccharomyces . . . . .	129
Scopulariopsis Blochii. . . . .	179
— Koningii. . . . .	179
Sensibilisatrices . . . . .	250
Séro-agglutination . . . . .	244
Séro-diagnostic de Wassermann . . . . .	249
— Widal . . . . .	246
Sérum coagulé. . . . .	14
— liquide . . . . .	14
Soins à donner au microscope . . . . .	28
Solutions colorantes . . . . .	94
Solution de Mayer. . . . .	98
Sous-cutanées (injections) . . . . .	105
Sphériacées . . . . .	105
Spores (couleur des) . . . . .	128
Sporo-agglutination. . . . .	272
Sporophorées. . . . .	246
Sporotrichées. . . . .	170
Sporotrichoses . . . . .	170
Sporotrichum (caractères dans les cultures) . . . . .	174
Sporotrichum . . . . .	171
Sporotrichum Beurmanni. . . . .	172
Sporotrichum Schenki. . . . .	174
Sporulation des levures . . . . .	211
Stérigmatocystis. . . . .	144
— nidulans . . . . .	144
Stérilisation par les agents chimiques . . . . .	29
— par la chaleur sèche . . . . .	29
— par la chaleur humide . . . . .	30
Sublimé acétique . . . . .	301
— alcoolique. . . . .	301

## T

Tableau indiquant l'absence ou la présence d'hémolysine dans les champignons supérieurs . . . . .	294
Tables des matières par ordre alphabétique . . . . .	321
Tannin acétique . . . . .	303
Tarse favique. . . . .	157
Technique pour les Vampyrellacées . . . . .	198
— pour les Chytridiacées . . . . .	198
— pour les Mucorinées. . . . .	199

	pages
Technique pour les Entomophthoracées . . . . .	206
— pour les Saprolegniées . . . . .	207
— pour les levures diverses . . . . .	209
— pour la sporulation des levures . . . . .	211
— pour déceler les propriétés des levures vis-à-vis des sucres . . . . .	214
— pour déceler les levures et constater leur pouvoir pathogène . . . . .	217
Technique pour la coloration des blastomycètes . . . . .	220
— pour les Périssporiacées . . . . .	222
— pour les parasites du Tokelau . . . . .	227
— pour les parasites des Caratés . . . . .	227
— pour les Pyrénomycètes . . . . .	229
— pour les champignons entomophytes . . . . .	242
— pour les parasites du bursetee leeches . . . . .	242
— pour le Malassezia furfur . . . . .	242
— pour les Gymnoascées . . . . .	231
— à l'étude du favus . . . . .	236
— de la sporo-agglutination . . . . .	246
— pour le Microsporium minutissimum . . . . .	237
— de la fixation mycosique . . . . .	254
— d'Anglade et Morel . . . . .	104
— pour les sporotrichum . . . . .	238
— pour les oospora . . . . .	239
— de Wright-Burri . . . . .	61
Teignes (des champignons) . . . . .	151 231
Thionine phéniquée . . . . .	226
Tokelau . . . . .	148
Torula . . . . .	129
Torulasporea . . . . .	130
Trichloracétique (acide) . . . . .	301
Trichophyton . . . . .	154
— caninum . . . . .	159
— endothrix pur . . . . .	155
— néo-endothrix . . . . .	155
— endo-ectothrix . . . . .	155
— tonsurans . . . . .	155
— violaceum . . . . .	158
— Sabouraudi . . . . .	159
— depilans . . . . .	159
— mentagrophytes . . . . .	159
— equinum . . . . .	159
— verrucosum . . . . .	159
— felineum . . . . .	156
Trichophyton Megnigni . . . . .	159
Trichosporées . . . . .	183
Trichosporon (caractères des) . . . . .	186
— ovoïdes . . . . .	187
— ovale . . . . .	187
— Beigeli . . . . .	187
— giganteum . . . . .	188

	pages
Tryptophane . . . . .	75
Tube de Büchner. . . . .	61
— Veillon . . . . .	60
Tubéracées. . . . .	128

## U

Uffelmann. . . . .	303
Ultra microscope de Stiassnie (examen de) . . . . .	27
Unna (Bleu polychromatique de) . . . . .	96
Urine . . . . .	15

## V

Valsées . . . . .	128
Veillon (Tube de). . . . .	60
Violet divers . . . . .	93
— aniliné. . . . .	97
— de Nastikow . . . . .	98
— de gentiane phéniquée . . . . .	96

## W

Wassermann (Réaction de). . . . .	254
— Principes élémentaires indispensables pour com- prendre la réaction de) . . . . .	246
Widal (Réaction de) . . . . .	249

## X

Xylariées. . . . .	128
--------------------	-----

## Z

Ziehl Fuchsine . . . . .	95
Zygosaccharomyces . . . . .	129

---

# TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION. . . . .	II

## PREMIÈRE PARTIE

### CHAPITRE PREMIER

Appareils et produits chimiques indispensables pour le laboratoire du mycologue. . . . .	1
Verrerie. . . . .	2
Produits chimiques. . . . .	3

### CHAPITRE II

Milieux de cultures . . . . .	4
Milieux liquides minéraux. . . . .	4
Milieux solides minéraux . . . . .	6
Milieux liquides végétaux. . . . .	9
Milieux solides végétaux. . . . .	10

### CHAPITRE III

Microscope et ultra microscope . . . . .	21
Mode d'emploi du microscope. . . . .	23
Dessin . . . . .	26

### CHAPITRE IV

Sterilisation . . . . .	29
Etuves et régulateurs . . . . .	31

### CHAPITRE V

Marche à suivre pour l'étude complète des champignons. . . . .	34
Unification des méthodes de culture . . . . .	37
Caractères biochimiques. . . . .	38
Milieu à base d'hydrate de carbone. . . . .	39
Comment envoyer les cultures de champignons . . . . .	40
Examen microscopique des champignons dans une culture . . . . .	40

	pages
CHAPITRE VI	
Manière d'opérer pour effectuer les ensemencements . . . . .	44
CHAPITRE VII	
Dissémination à la surface des milieux solides . . . . .	49
Culture à la température optima et cultures fractionnées . . . . .	51
Cultures en milieux spéciaux. . . . .	51
CHAPITRE VIII	
Isolement des champignons inférieurs . . . . .	53
Développement des cultures et modification des milieux . . . . .	55
Obtention d'une culture pure à partir d'une seule spore . . . . .	56
Culture en anaérobie. . . . .	57
CHAPITRE IX	
Procédés d'étude des produits formés dans les cultures. . . . .	62
CHAPITRE X	
Nettoyage des lames et des lamelles . . . . .	82
CHAPITRE XI	
Fixation des préparations microscopiques . . . . .	84
CHAPITRE XII	
Classification des méthodes de coloration. . . . .	87
Colorants . . . . .	94
I Solutions simples . . . . .	90
II Solutions mordancées. . . . .	95
III Solutions alcalines . . . . .	97
IV Solutions bichlorurées. . . . .	98
V Couleurs composées. . . . .	98
Méthode de Gram . . . . .	103
CHAPITRE XIII	
Examen et coloration des champignons filamenteux (Technique générale) . . . . .	100
Coloration au bleu lactique . . . . .	100
Coloration au colorant triple de Gueguen. . . . .	101

## CHAPITRE XIV

Inoculation aux animaux de laboratoire. . . . .	pages 101
---	--------------

## DEUXIÈME PARTIE

## CHAPITRE XV

Description des principaux champignons pathogènes. . . . .	111
1 Oomycètes . . . . .	111
a Vampyrellacées . . . . .	112
Chytridiacées . . . . .	113
b Mucorinées . . . . .	114
Clef des mucorinées parasites. . . . .	115
Mucor pusillus. . . . .	116
Mucor Regneri . . . . .	116
Mucor coenobii. . . . .	116
Mucor Trichisi . . . . .	118
Genre Rhizomucor. . . . .	118
Rhizomucor parasiticus . . . . .	118
Rhizomucor septatus. . . . .	119
Genre Rhizopus. . . . .	119
Rhizopus Gohii . . . . .	120
Rhizopus equinus. . . . .	120
Genre Mortierella. . . . .	120
c Entomophthoracées . . . . .	121
Tableau des caractères principaux des Entomophthoracées (d'après Gue-	
zuen) . . . . .	122
Empusa. . . . .	122
Entomophthora. . . . .	124
d Saprolegniacées. . . . .	125
Clef des Saprolegniacées parasites des animaux . . . . .	125
Saprolegnia . . . . .	126
Aethya . . . . .	126

## CHAPITRE XV bis

2 <sup>a</sup> Ascomycètes. . . . .	128
Classification des Ascomycètes . . . . .	128
a Discomycètes . . . . .	129
Monospora. . . . .	130
Saccharomyces . . . . .	131
Saccharomyces anginae . . . . .	131
Saccharomyces timofejevi. . . . .	131
Saccharomyces granulatus . . . . .	132
Saccharomyces Blanchardi . . . . .	132
Saccharomyces Le Monnierii . . . . .	133
Cryptococcus. . . . .	134
Cryptococcus degenerans. . . . .	134
Cryptococcus lingua pilosae . . . . .	134
Cryptococcus hominis . . . . .	134
Cryptococcus Rogerii. . . . .	135
Endomyces albicans . . . . .	135
b Perisporiacées . . . . .	139
Aspergillus. . . . .	139
Principaux aspergillus pathogènes. . . . .	139

	pages
<i>Aspergillus bronchialis</i> . . . . .	139
<i>Aspergillus fumigatus</i> . . . . .	140
<i>Aspergillus fumigatoïdes</i> . . . . .	142
<i>Aspergillus Fontoyonti</i> . . . . .	143
<i>Sterigmatocystis</i> . . . . .	144
<i>Sterigmatocystis nidulans</i> . . . . .	145
<i>Penicillium</i> . . . . .	146
<i>Penicillium brevicaulis</i> var. <i>hominis</i> . . . . .	146

## CHAPITRE XVI

Parasite du Tokelau . . . . .	148
Champignons des Caratés . . . . .	149
<i>Madurella</i> . . . . .	150
<i>Madurella myceloni</i> . . . . .	150
— <i>Bovoi</i> . . . . .	151
— <i>Tozeuri</i> . . . . .	151
<i>Indiella</i> . . . . .	152
— <i>Mansoni</i> . . . . .	152
— <i>Reynieri</i> . . . . .	152

## CHAPITRE XVII

c) <i>Gymnoascées</i> . . . . .	155
<i>Trichophyton</i> (généralités) . . . . .	155
<i>Trichophyton endothrix</i> parasites de l'homme (d'après Sabouraud) . . . . .	156
<i>Trichophyton tonsurans</i> . . . . .	156
<i>Trichophyton ectothrix</i> parasites de l'homme (d'après Sabouraud) . . . . .	159
<i>Microsporum</i> . . . . .	159
— parasites de l'homme . . . . .	161
— <i>Andouini</i> . . . . .	161
<i>Achorion Schönleini</i> . . . . .	161
d) <i>Pyrenomycètes</i> . . . . .	166
Laboulbeniacées . . . . .	166

## CHAPITRE XVIII

Mucédinées . . . . .	168
Classification des Mucédinées (d'après Vuillemin) . . . . .	170
<i>Corethropsis hominis</i> . . . . .	170
<i>Sporotrichum</i> divers . . . . .	171
— <i>Beurmanni</i> . . . . .	172
— <i>Schencki</i> . . . . .	174
Caractères différentiels des <i>Sporotrichum</i> . . . . .	175
<i>Acremonium Potroni</i> . . . . .	177
<i>Scopulariopsis Blochi</i> . . . . .	179
<i>Hemispora stellata</i> . . . . .	183
<i>Hormodendron Fontoyonti</i> . . . . .	183
<i>Malassezia furfur</i> . . . . .	184
<i>Pityrosporum ovale</i> . . . . .	185
<i>Trichosporon</i> . . . . .	185
— ovoïdes . . . . .	185
— <i>Beigeli</i> . . . . .	187
— <i>giganteum</i> . . . . .	187
Hyphomycètes parasites de l'homme (d'après Brumpt) . . . . .	189



	pages
Oospora . . . . .	190
— bovis . . . . .	193
— pulmonalis . . . . .	194
— buccalis . . . . .	194
— bronchialis . . . . .	194
— acido-résistant . . . . .	197

## TROISIÈME PARTIE

### CHAPITRE XIX

Méthodes et technique à employer suivant l'espèce des champignons à examiner . . . . .	198
1 Oomycètes . . . . .	198
Technique pour les Vampyrellacées . . . . .	198
Technique pour les Chytridiacées . . . . .	198
Technique pour les Mucorinées : récolte, milieux, culture, inoculation des terres, obtention des zygospores, coloration, recherche des Mucorinées parasites au sein des lésions . . . . .	199
Règles à suivre dans la détermination des Mucorinées . . . . .	199
Étude du pouvoir pathogène des Mucorinées . . . . .	205
Technique pour les Entomophthoracées . . . . .	206
Technique pour les Saprolegniacées . . . . .	207

### CHAPITRE XXI

2 Ascomycètes . . . . .	209
Technique pour les levures diverses . . . . .	209
Méthode pour obtenir la sporulation des levures . . . . .	211
Détermination du nombre des cellules dans une culture . . . . .	213
Méthode pour déceler les propriétés des levures vis-à-vis des sucres . . . . .	214
Examen cytologique des levures . . . . .	214
Conservation des levures . . . . .	216
Procédé de laboratoire pour déceler les levures et constater leur pouvoir pathogène . . . . .	217
Examen d'une biopsie . . . . .	218
Examen du pus . . . . .	218
Cultures . . . . .	218
Examen des divers autres produits . . . . .	218
Hémoculture . . . . .	219
Aschitriculture . . . . .	219
Inoculation . . . . .	219
Recherche dans les lésions . . . . .	221
Recherche de l' <i>Endomyces albicans</i> . . . . .	221

### CHAPITRE XXII

Technique pour les Périssporiacées . . . . .	222
Aspergillacées (diagnostic des) . . . . .	222
Technique pour le Tokelau . . . . .	226
Technique pour les Caratés . . . . .	227

	pages
Préparations microscopiques. . . . .	243
Recherche dans les lésions. . . . .	224
Recherche de l' <i>Aspergillus fumigatus</i> dans les crachats. . . . .	225

## CHAPITRE XXIII

Pyrenomycètes. . . . .	229
<b>Technique pour les Laboulbeniacées</b> . . . . .	229

## CHAPITRE XXIV

Gymnoascacées . . . . .	231
<b>Technique pour les champignons des teignes en général.</b> . . . .	231
Prélèvement du cheveu. . . . .	231
Préparations permanentes . . . . .	232
Préparations colorées . . . . .	232
Méthodes d'Adamson, de Colthoum, de Wälsch . . . . .	232
Anatomie pathologique . . . . .	232
Méthodes d'ensemencement. . . . .	235
Examen microscopique du parasite dans la lésion. . . . .	235
Recherche du <i>Microsporum minutissimum</i> . . . . .	237

## CHAPITRE XXV

<b>Mucédinées.</b> . . . .	238
<b>Technique pour les Sporotrichum.</b> . . . .	238
<b>Technique pour les Oospora</b> . . . . .	238
Recherche de grains jaunes . . . . .	241
Coloration des granulations. . . . .	241
<b>Technique pour le Malassezia furfur</b> . . . . .	242
Technique pour l'étude du parasite du bursalee-leeches . . . . .	242

## CHAPITRE XXVI

Méthodes biologiques . . . . .	244
Agglutination et précipitation . . . . .	244
Sporo-agglutination . . . . .	246
Principes et explications nécessaires pour comprendre la séro-réaction de Wassermann . . . . .	249
Réaction de fixation du complément pour les sporotrichum. . . . .	254
Réaction de fixation pour les Oospora . . . . .	260

## APPENDICE

Basidiomycètes et généralités comparatives. . . . .	262
Mycelium divers . . . . .	263
Réceptacles. . . . .	264
Stipe. . . . .	264
Anneau . . . . .	265
Lamelles . . . . .	265
Réceptacle angiocarpe . . . . .	266
Volve . . . . .	267
Surface hyméniale . . . . .	268

	pages
Réceptacle filamenteux . . . . .	269
Hyménium . . . . .	269
Observations macroscopiques et microscopiques de l'Hyménium (coloration, etc.) . . . . .	270
Comment reconnaître la position et la nature de l'hyménium . . . . .	270
Spores . . . . .	271
Comment connaître la couleur des spores . . . . .	271
Examen microscopique des spores . . . . .	271
Constitution d'une sporothèque . . . . .	273
Etude cytologique des champignons supérieurs . . . . .	274
Fixation . . . . .	275
Méthodes d'Inclusion . . . . .	276
Méthode de coloration . . . . .	279
Montage des coupes . . . . .	282
Coupe à la celloïdine . . . . .	283
Comment se rendre compte des propriétés hémolytiques des champignons vénéneux . . . . .	284
Hémolyse des globules du cobaye . . . . .	285
A quelle température les propriétés hémolytiques sont-elles détruites ? . . . . .	286
Extraction et propriété chimique de l'Amanita toxine . . . . .	287
— — — de l'Amanita hémolysine . . . . .	289
Les agglutinines des champignons . . . . .	291
Détermination du champignon ingéré par la spore . . . . .	293
Tableau indiquant le degré de toxicité des principaux champignons . . . . .	294
— la présence ou l'absence d'hémolysine dans certains champignons . . . . .	294

### Errata.

Page 128, au lieu de Chapitre XV, lire Chapitre XV bis.



---

COULOMMIERS

Imprimerie DESSAINT et C<sup>ie</sup>

---









